Das Ferment Urokinase

Ursula Händler

1968

Aus der I. Medizinischen Klinik der Universität München
(Direktor Professor Dr. med. H. Schwiegk)

DAS FERMENT UROKINASE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität
zu München

vorgelegt von

Ursula Händler
aus Münster/Westf.

München 1968

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. med. R. Marx

Correferent: Professor Dr. med. H. Schwiegk

Dekan: Professor Dr. med. F. Holle

Tag der mündlichen Prüfung: 20. Februar 1968

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

UNI-Druck, München 13, Amalienstraße 85

Inhalt

	Seite
I. Einleitung	1
II. Historischer Überblick	2
III. Das fibrinolytische System	4
1. Blutgerinnung und Fibrinolyse	4
2. Komponenten des fibrinolytischen Systems	4
a) Plasminogen	5
b) Plasmin	5
c) Plasminogen-Aktivatoren	7
d) Fibrinolyse-Inhibitoren	9
IV. Vorkommen der Urokinase	12
V. Derzeitige Vorstellung über die Genese der Urokinase	13
1. Hypothese: ausgeschiedener Blutaktivator	13
2. Hypothese: ausgeschiedener Gewebsaktivator	14
3. Hypothese: Synthese in der Niere	14
VI. Derzeitige Vorstellung über die physiologische Bedeutung der Urokinase	21
1. Lokale Bedeutung im Harntrakt	21
2. Allgemeine Bedeutung	22
VII. Ausscheidung der Urokinase	23
1. Ausscheidung in Abhängigkeit von Geschlecht, Alter, Zeit	23
2. Ausscheidung unter pathologischen Verhältnissen	23
3. Ausscheidung exogen zugeführter Urokinase	24

Seite

VIII. Bestimmung der Urokinase-Aktivität im Urin 25

1. Fibrinplattenmethode 25
2. Reagenzglasmethode 25
3. Caseinolytische Methode 26
4. Direkte Bestimmung durch Spaltung synthetischer Ester 26

IX. Urokinase-Konzentrate 27

1. Methoden und Ausbeute 27
2. Einheiten der Urokinase 28
3. Eigenschaften der Urokinase-Präparate 29
   a) Aktivität 29
   b) Stabilität 29
   c) Zusammensetzung 29
   d) Molekulargewicht 29
   e) Elektrophoretische Reinheitsgrade 30
   f) Esteraseaktivität 30
   g) Proteolytisches Ferment 31
   h) Plasminogen-Aktivierung 31

4. Reinigung der Präparate 31
   a) von Uropepsin 31
   b) von Trypsin-Inhibitor 32
   c) von thromboplastischen Substanzen 32

X. Klinische Bedeutung der Urokinase 34

1. Hämaturie 34
   a) Hämaturie nach Prostata-Operationen 34
   b) Hämaturie bei Koagulopathien 39
   c) Essentielle Hämaturie - "Hyperurokinasurie" 39

2. Entzündung des Harntrakts 41

XI. Urokinase im thrombolytischen System des Organismus 42

1. Derzeitige Vorstellung über die Thrombolyse 42
   a) Hypothese der Aktivator-Thrombose 42
   b) Hypothese der Plasmin-Thrombolyse 45

Seite

2. Koagulationsdefekt als Folge gesteigerter fibrinolytischer Aktivität 46
3. Thrombolyse durch Aktivierung des fibrinolytischen Systems mit Urokinase 46
4. Plasmininhibitoren der Urokinase-Aktivität 48
5. Einfluß der Blutzellen auf Urokinase 50
a) Erythrozyten 50
b) Leukozyten 50
c) Thrombozyten 50

6. Plasmaclearance 51
7. Einfluß synthetischer Verbindungen auf die Urokinase-Aktivität 52

XII. Tierexperimentelle Thrombolyse durch Urokinase 53

XIII. Thrombolytische Therapie mit Urokinase beim Menschen 60

1. Bisherige klinische Ergebnisse 60
a) systematisierte fibrinolytische Aktivität durch Urokinase 60
b) Fallbericht der I. Medizinischen Klinik der Universität München 65
c) lokale Therapie mit Urokinase 67
Hyphema 67
Meningitis 68
Meningitis und Ventrikulitis 68
Idiopathisches Atemnotsyndrom (Hyaline Membranen) 69

2. Nebenwirkungen 71
a) Allgemeine Nebenreaktionen 71
b) Blutungen 72
c) Thromboplastische Aktivität 72
d) Antigene Wirkung 73

3. Antidote 73
a) EACA, AMCHA, PAMBA 73
b) Kallikrein-Inhibitoren 74
c) Pankreas-Inhibitoren 75
d) Pflanzliche Inhibitoren 76

Seite

4. Kombination der Urokinase mit anderen Medikamenten 76
   a) Antikoagulantien 76
   b) Nebennierenrinden-Steroide 79

5. Praktische Durchführung der thrombolytischen Therapie 79
   a) Therapieüberwachung 79
   b) Kontrolle der klinischen Ergebnisse 81

6. Indikationen und Kontraindikationen zur Thrombolyse 81

XIV. Vergleich der Urokinase mit anderen Fibrinolytika 84

1. Indirekte Fibrinolytika 84
2. Direkte Fibrinolytika 84
   a) Streptokinase 84
   b) Plasminpräparate 87

XV. Schlußbetrachtung 89

Literatur 91

Lebenslauf 114

I. Einleitung

Die hohe Mortalität und Morbidität als Folge akuter thrombo-embolischer Gefäßleiden haben in den letzten Jahren zu einer intensiven Forschung geführt mit dem Ziel, neben der allgemein üblich gewordenen Antikoagulantienprophylaxe mit Heparin- und Cumarinpräparaten durch eine spezifische enzymatische Therapie in vivo eine Thrombolyse hervorzurufen.

Die Urokinase, ein Aktivator des Plasminogens, aus menschlichem Urin gewonnen, ohne antigene oder toxische Eigenschaft, scheint ein vielversprechendes Thrombolytikum zu sein. An mehreren Universitätsforschungszentren in den USA und Europa ist Urokinase zur Zeit Objekt eingehender Untersuchungen. In der vorliegenden Arbeit wird versucht, eine Zusammenfassung der bisher bekannten Eigenschaften und Wirkungen der Urokinase zu geben.

II. Historischer Überblick

Schon fast hundert Jahre wird die Fähigkeit des Urins, Fibrin abzubauen, studiert.

1885 wies SAHLI auf die proteolytische Aktivität im Urin hin, die Casein und Albumin spaltet. Gegen Ende des 19. Jahrhunderts setzte eine intensive Diskussion über das Schicksal der Verdauungsfermente nach Erfüllung ihrer Aufgaben im Magen-Darmtrakt ein. Pepsin (BRÜCKE 1861), Trypsin, Amylase und Renin (GRÜTZNER 1882) sollten alle im Urin vorhanden sein. Das Substrat für proteolytische Studien war zu dieser Zeit vorwiegend Fibrin, das stets mit Plasminogen verunreinigt war. Die untersuchte proteolytische Aktivität des Urins bei neutralem oder schwach alkalischem pH, die "Trypsinaktivität", muß zum großen Teil Wirkung der Urokinase gewesen sein. 1890 fand BENDERSKY, daß das "Trypsin" im Urin sich von Pancreastrypsin unterschied und nannte es "Urotrypsin". Er stellte außerdem fest, daß es erhitztes Fibrin nur langsam spaltet.

1913 zeigte JOHANSSON, daß Urin und Fibrin Coenzyme enthalten und nahm an, daß eines von ihnen eine Kinase sei, die ein anderes Ferment aktiviert. 1921 kam HEDIN durch Versuche an gereinigteren Systemen zu dem Ergebnis, daß sowohl das Harnferment als auch das Globulinferment aus Ochsenserum Casein in geringem Ausmaß zu spalten vermag. Verband er jedoch die beiden Fermente, so war die resultierende caseinolytische Wirkung größer als die Summe der beiden getrennten Wirkungen.

Die Interpretation dieser Ergebnisse als Aktivierung von Plasminogen durch Urokinase war damals noch nicht möglich. Erst 1947 wiesen MAC FARLANE und PILLING erneut auf die fibrinolytische Aktivität im Urin hin, die eine Beziehung zur fibrinolytischen Aktivität des Blutes haben soll. Die Möglichkeit einer Aktivatorwirkung im Harn wurde erst 1951 erkannt, als WILLIAMS feststellte, daß die fibrinolytische Aktivität des Urins auf einer Kinase beruht, die Plasminogen zu aktivieren vermag. Er vermutete, daß die Kinaseaktivität aus dem Harntrakt stammt und vom Magen-Darmtrakt und von der Blutaktivität völlig unabhängig ist.

ASTRUP und STERNDORFF (1952) beschrieben die hohe fibrinolytische Aktivität des Urins an normalen Fibrinplatten und ihr Verschwinden nach Zerstörung des Plasminogens durch Erhitzen. Die Autoren inkubierten erhitzte Fibrin-

platten mit Plasminogen und Urin und konnten durch die starke Fibrinolyse zeigen, daß der Harn tatsächlich einen Plasminogenaktivator enthält.

BJERREHUUS (1952) und SOBEL, MOHLER und GUEST (1952) kommen unabhängig voneinander fast gleichzeitig zu demselben Ergebnis. Die letztere Gruppe nannte den Urinfaktor "Urokinase".

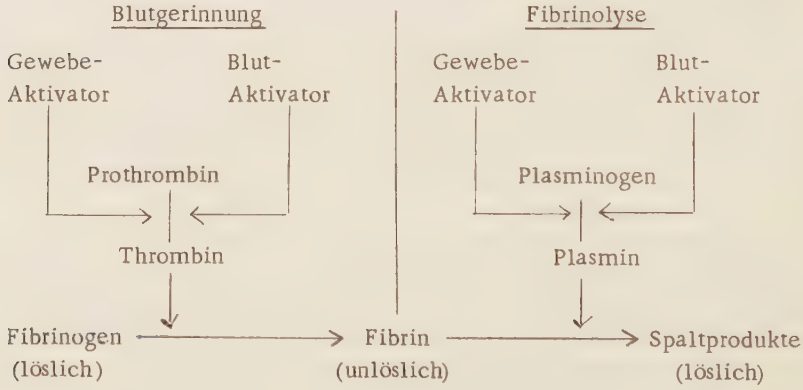
III. Das fibrinolytische System

Unter "Fibrinolyse" versteht man die enzymatische Spaltung des unlöslichen Fibrins in lösliche Fragmente. "Thrombolyse" bezeichnet die Spaltung spontaner oder künstlicher intravasaler Thromben.

1. Blutgerinnung und Fibrinolyse

Im gesunden Organismus besteht ein Gleichgewicht zwischen fibrinbildenden und fibrinauflösenden Vorgängen.

Blutgerinnung und Fibrinolyse zeigen bei entgegengesetzter Wirkung einen sehr ähnlichen Mechanismus. Durch Blut- oder Gewebeaktivatoren wird eine inaktive Vorstufe (Prothrombin bzw. Plasminogen) in das aktive proteolytische Enzym im Plasma umgewandelt (Thrombin bzw. Plasmin), das ein Proteinsubstrat (Fibrinogen bzw. Fibrin) zu niedermolekularen Bruchstücken und Peptiden abbaut. Beide Systeme sind durch Inhibitoren abgesichert.



2. Komponenten des fibrinolytischen Systems

Die Hauptkomponenten des fibrinolytischen Systems sind: Plasminogen (Profibrinolysin), Plasmin (Fibrinolysin), Aktivatoren (Fibrinolysokinasen) und Inhibitoren.

a) Plasminogen

Plasminogen ist ein relativ thermostabiles, gegen pH-Änderungen resistentes Globulin, das im Plasma (Cohns Fraktion III/3) des Menschen und vieler Säuger vorkommt. Die Plasminogen-Synthese konnte bisher im Organismus nicht lokalisiert werden. In vivo wird es durch plasmatische (ASTRUP und PERMIN 1947) oder zelluläre (ASTRUP und MÜLLERTZ 1952) Aktivatoren durch eine enzymatische Reaktion 1. Ordnung in das proteolytische Ferment Plasmin umgewandelt. In vitro ist eine Aktivierung spontan, durch Verdünnung des Blutes, durch Lipoidlösungsmittel und Proteasen möglich. Plasminogen ähnliche Substanzen wurden in verschiedenen Geweben und Sekreten entdeckt (KOWALSKI et al. 1958), während sie in aktivatorreichen Geweben und Sekreten weitgehend fehlen. Das Molekulargewicht liegt nach SHULMAN (1960) im Bereich von 143 000, nach DAVIES und ENGLERT (1960) bei 83 000.

Nach ASTRUP (1952) ist Plasminogen ein Lipoproteid, dessen Aktivierung in der Abspaltung eines lipoidhaltigen Hemmkörpers besteht. SHERRY et al. (1959) beschreiben die Plasminogenaktivierung als einen proteolytischen Prozeß mit Abspaltung von Lysin oder Lysin und Arginin. Neuere Untersuchungen lassen vermuten, daß es sich um ein Glyco-Euglobulin handelt. Wahrscheinlich liegt im Plasminogen ein Komplex mit proenzymatischer Eigenschaft vor (SLOTTA und GONZALES 1964 a und b).

Plasminogen zeigt eine starke Affinität zu Fibrin. Während es von Fibrinogen leicht zu trennen ist, gelang es bisher nicht, Fibrin von Plasminogen zu reinigen. Die biologische Grundlage dieser Affinität ist noch nicht erkannt.

Nach KLINE (1953) hergestellte Plasminogenpräparate sind aktivierbar, können intravenös verabreicht werden und bei entsprechender Dosierung eine fibrinolytische Aktivität erzeugen.

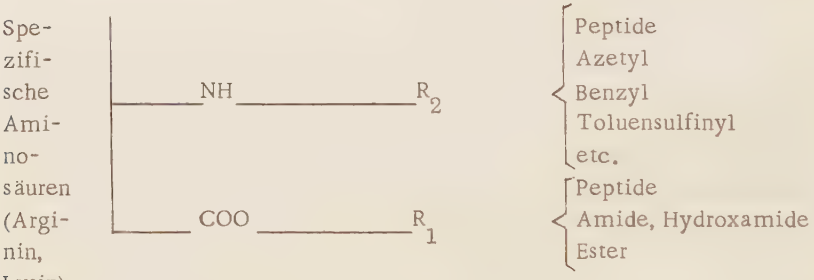
b) Plasmin

Plasmin ist eine Protease wie Trypsin, Chymotrypsin und Pepsin mit einem Molekulargewicht von 108 000 (ALKJAERSIG et al. 1958),(SHULMAN 1960) bzw. 188 000 (BLATT et al. 1964). Die physikalisch-chemischen Eigenschaften sind dem Plasminogen sehr ähnlich. Aktiv bei neutralem pH wird es wie Plasminogen an Fibrin adsorbiert (SCHMITZ 1936) und vermag es zu spalten. In gereinigten Systemen jedoch zeigt es sich nicht unbedingt

substratspezifisch und lysiert folgende Ester und Eiweißkörper (in der Reihenfolge der Substrataffinität):

Tolyensulfinyl-Argininmethylester (TAMe),
Benzoyl-Argininmethylester (BAMe),
Lysinmethylester (LMe), Lysinaethylester (LEe) (TROLL et al. 1955),
Fibrin, Fibrinogen (Faktor I), Proaccelerin (Faktor V), Antihaemophilie Faktor A (VIII), Komplementfaktoren, Zinkinsulin, Prothrombin (II), Casein, Gelatine, Wachstumshormon (Lit. cf. STAMM 1962).

Die spaltbaren Substrate zeigen eine spezifische Molekülkonstellation, die durch die Karboxypeptidase Plasmin gespalten wird. Die synthetischen Lysin- und Argininester stellen die optimalen Substrate des Plasmins dar und erweisen sich als kompetitive Inhibitoren der fibrinolytischen Aktivität.



Spaltung durch die Karboxypolypeptidase Plasmin (nach SHERRY und ALKJAERSIG 1957).

Freies Plasmin kommt im Blut normalerweise in geringer Menge vor; es wird durch Antiplasmine inaktiviert, die im Überschuß vorhanden sind, so daß im entnommenen Blut das Eigenfibringerinnsel während mehrerer Tage nicht oder nur unwesentlich abgebaut wird (STAMM 1962). Das Verhältnis von Plasmin zu Antiplasmin soll 1 : 30 bzw. 4 : 5 betragen (MARX 1962 b). Durch die innige Plasmin-Fibrin-Adsorption wird das adsorbierte Plasmin der Antiplasminwirkung entzogen, während die Gerinnungsfaktoren I, V, VIII vor der proteolytischen Wirkung des Plasmins durch Antiplasmin geschützt werden.

In Interzellulärräumen und Lymphspalten tritt Plasmin bei Entzündung ver-

mehrt auf und kann renal ausgeschieden werden (BJERREHUUS 1952). Wahrscheinlich existieren mehrere Plasmine.

Im Gegensatz zum Plasminogen liegt die meßbare Plasminaktivität des Plasmas bei den meisten Tieren bedeutend niedriger als beim Menschen. Die Konzentration im Plasma von Rind, Pferd, Hund, Affe und Meerschweinchen beträgt ungefähr ein Zehntel der menschlichen Konzentration.

c) Plasminogen-Aktivatoren (Fibrinolysokinasen)

Eine physiologische Fibrinolysokinase-Aktivität tritt generalisiert im Blut resp. im ganzen Organismus in Erscheinung, wenn von den Körperzellen infolge Läsion, Oberflächenstrukturveränderung durch Besetzung mit gewissen zellaffinen Substanzen (Pyrogene, Allergene, Antigene), Dysfunktion der vegetativen Steuerung, Stoffwechselstörungen usw. Kinasen in Freiheit gesetzt werden (STAMM 1962).

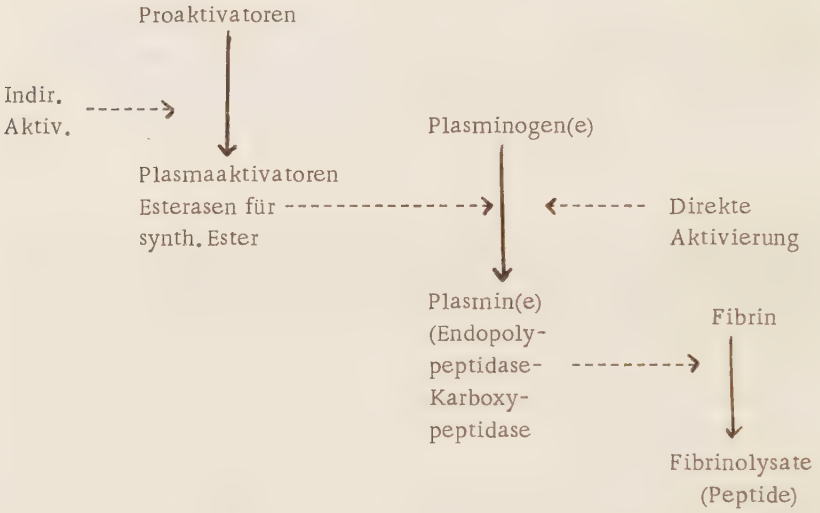
Der Gewebsaktivator ist wasser- und plasmaunlöslich, löslich in Kaliumrhodanid, relativ stabil gegen Hitze, Säure und Alkali. Er hat langsame Reaktionsgeschwindigkeit. CALL und KLINE konnten 1965 nachweisen, daß die Aktivierung des Plasminogens durch den Gewebsaktivator katalytisch erfolgt.

Die Blutaktivatoren werden durch wasserlösliche Lysokinasen, die sich sogleich im Blut verteilen, von inaktivem Proaktivator in aktive Form transformiert. Sie sind wasser- und plasmalöslich, labil gegenüber Hitze, Säure und Alkali und reagieren schnell. Proaktivator und Aktivator differieren in der Stabilität gegen Temperatur- und pH-Änderungen (MÜLLERTZ 1955).

Es ist unbekannt, inwieweit Inhibitoren die Labilität der Blutaktivatoren beeinflussen und ob die Aktivatoren im Blut eventuell mit denen des Gewebes identisch sind (ALBRECHTSEN 1959).

Die Blutaktivatoren sind vor allem in der Euglobulinfraktion vorhanden (LEWIS und FERGUSON 1951). Die wichtigste Eigenschaft liegt neben der Plasminogen-Aktivierung in ihrer Fähigkeit, an Fibrin adsorbiert zu werden (MÜLLERTZ 1953). Das bedeutet, daß eine Thrombolyse eintreten kann ohne generalisierte Fibrinolyse (SHERRY et al. 1959).

Vorstellung der direkten und indirekten Plasminogenaktivierung. Die medizinisch bedeutsamsten Aktivatoren sind unterstrichen (nach MARX 1962):



A. Indirekte Aktivierung durch:

1. freigesetzte Hämo-, Zytolysokinasen
   (Leukozyten, Erythrozyten?)
2. freigesetzte Histiolysokinasen
   (aus manchen Gewebsmastzellen)
3. Bakterienlysokinasen
   z.B. Streptokinase
4. Körperfluida
   z.B. Aszites
5. Heparin(oide)
6. Pepton?

B. Direkte Aktivierung durch:

1. Gewebsaktivatoren
   (aktive zelluläre Fibrinolysokinasen)
2. direkt wirkende Körperflüssigkeitsaktivatoren in:
   Milch (enthält auch Proaktivator)
   Tränen

Sperma
Speichel
Augenkammerwasser
Fruchtwasser
Urin (Urokinase = Esterase)

3. Bakterienaktivatoren
   Staphylokinase (nur direkt wirksam?)
4. Plasmine
5. Thrombine E_1, E_2, C ? (SEEGERS et al. 1960)
6. Trypsin (Papain, Fizin)
7. Pilzfermente
   (Aspergillus O) (STEFANINI et al. 1959)
8. Chloroform
   (Thymol, Toluol, Äther, Azeton, Merfen)
9. Serotonin? Reserpin? (ASHWIN et al. 1964)

d) Fibrinolyse-Inhibitoren

Das fibrinolytische System wird durch einen Komplex von Inhibitoren abgesichert, deren Charakteristik noch größtenteils unbekannt ist. Es bestehen große Schwierigkeiten in der Herstellung genügend reiner Präparate. Die Hemmstoffe werden geteilt in die Gruppe der Antiplasmine und der Fibrinolysokinasen-Inhibitoren. Es würde über den Rahmen dieser Arbeit hinausgehen, sich eingehend mit diesem schwierigen Gebiet zu befassen; es sei nur eine Zusammenstellung wiedergegeben (im wesentlichen nach MARX 1962 a):

A. Antiplasmine

I. Im Blut (des Menschen):

1. Fibrin (Antiplasmin 1)
2. α_1 Antitrypsin (Progressivantiplasmin)
3. α_2 Antitrypsin (Antiplasmin)
4. α_2 Makroglobulin (Sofortantiplasmin)
5. Thrombozytenantiplasmin(e) (Sofortinhibitor Adsorbat?)
6. Leukozytenantiplasmine
7. α_1 Heparin (gering aktiv) (in höheren Konzentrationen)
8. Cholesterin und ß-Lipoidproteine (?)

II. in den Geweben:

1. Pankreasantiplasmin = Trypsininhibitor von Kunitz
2. Kalikreininhibitoren aus Parotis, Leber und Lunge (Sofortantiplasmine)
3. weitere Gewebsinhibitoren des Plasmins, z.B. in der Milz
4. α-Heparin (in den Heparinozyten) (bei hohem Titer)

III. in den Gewebsflüssigkeiten und den Sekreten (des Menschen):

1. Inhibitoren (stofflich verschiedene?) in den Gewebsflüssigkeiten und Sekreten (Exsudate, Follikelflüssigkeit, Urin, Kolostrum, Sperma)

IV. in den Pflanzen:
Pflanzliche Antiplasmine in:

a) Bohnenarten (Soja-, Lima-, Navybohnen usw.)
b) Erbsen (Kichererbsen)
c) Erdnüsse (?)
d) Kartoffeln

V. artefiziell-synthetisch:

1. E-Aminocapronsäure (EACA)
2. p-Tolyen-Arginin- und Lysinester (kompetitive Inhibitoren)

B. Hemmstoffe der Fibrinolysokinasen

I. im Blut: Fibrinolysokinase-Inhibitoren (Hemmung der Plasmaaktivatoren)

1. α_2 Globulin-Inhibitor
2. Lysin- und Argininester
3. Lysin und Ornithin
4. EACA
5. 4-Amino-methyl-zyklohexancarbonsäure (AMCHA) (OKAMOTO 1962)
6. p-Aminomethylbenzoesäure (PAMBA) (LOHMANN et al. 1963)
7. Kallikreininhibitoren
   Trypsininhibitor (KUNITZ)

II. In den Geweben:
Inhibitoren aktiv zellulärer Fibrinolysokinasen

1. EACA
2. manche Peptine (NILSSON et al. 1961 b)

Über die Inhibitoren der Urokinase wird in einem eigenen Kapitel berichtet (Kap. XI, S. 42).

Die Messung der fibrinolytischen Aktivität und der verschiedenen Komponenten des fibrinolytischen Systems mit Untersuchungsmethoden und Meßvorschriften wurde ausführlich beschrieben von STAMM (1962) und v. KAULLA (1963).

IV. Vorkommen der Urokinase

MOHLER, CELANDER und GUEST (1958) fanden Urokinase im Urin von Mensch, Katze, Ratte, Rind, Kaninchen, Hund und Hamster. Die Urokinase zeigt in bezug auf die Plasminogen-Aktivierung ausgesprochen rassespezifische Eigenschaften. Die Aktivierung des Plasminogens von Tier A durch die Urokinase des Tieres B muß nicht notwendigerweise die Aktivierung des Plasminogens von Tier B durch die Urokinase des Tieres A nach sich ziehen.

Die Urokinase des Meerschweinchens zeigt z.B. nur eine gute reproduzierbare Aktivierung bei Einwirkung auf das eigene Plasminogen. Menschliches Plasminogen wird zu 25 - 30% aktiviert, während humane Urokinase das Plasminogen des Meerschweinchens gut aktiviert (RAAB 1964). Es sei noch erwähnt, daß sogar bei niedrigen Vertebraten eine Aktivierung des fibrinolytischen Systems durch humane Urokinase möglich ist, wie BLOFIELD (1965) an einer südafrikanischen Krötenart zeigte.

Die folgende Tabelle zeigt die Aktivierungsergebnisse von verschiedenen Plasminogen-Urakinase-Gemischen nach MOHLER et al. 1958.

Der Aktivierungsindex ist angegeben als Verhältnis der Lysiszeiten von Plasminogen-Urokinase-Gemischen zum Zeitpunkt der Mischung bzw. der maximalen fibrinolytischen Aktivität.

Aktivator	Aktivierungsindex Plasminogen von:					
	Katze	Ratte	Rind	Kaninch.	Mensch	Hund
UK von:						
Katze	2, 4	2, 9	1, 6	4, 5	5, 0	9, 0
Ratte	1, 5	5, 4	0, 9	5, 7	4, 4	13, 3
Rind	1, 0	1, 0	1, 4	2, 0	3, 2	4, 0
Kaninchen	1, 1	1, 5	2, 8	4, 0	4, 6	6, 4
Mensch	1, 2	1, 5	2, 2	1, 7	2, 7	14, 0
Hund	1, 7	1, 0	2, 7	2, 0	1, 5	9, 0
Hamster	0, 8	1, 0	1, 0	3, 8	1, 9	14, 5

V. Derzeitige Vorstellung über die Genese der Urokinase

Der Ursprung der Urokinase ist unbekannt. Es bestehen zur Zeit mehrere Hypothesen über die Genese der Urokinase und ihr Verhältnis zu Gewebs- und Blutaktivatoren.

1. Hypothese: Urokinase - ausgeschiedener Blutaktivator.

Diese Theorie von SMYRNIOTS, FLETCHER et al. (1959) stützt sich auf die Änderung der ausgeschiedenen Urokinasemenge unter verschiedenen pathologischen Verhältnissen, über die in einem eigenen Kapitel berichtet wird (Kap. VII,2, S. 23).

Nach FLETCHER et al. (1965) entspricht die 50% Plasmaclearance eines infundierten Urokinase-Präparates in vivo ungefähr der des Blutaktivators. Die Beobachtungen dieser Autoren weisen darauf hin, daß Urokinase und der natürliche Aktivator im Plasma durch einen ähnlichen Mechanismus aus dem Blut entfernt werden. Der Wirkungsmechanismus der Urokinase auf das fibrinolytische System in vivo ist qualitativ und wahrscheinlich auch quantitativ weitgehend dem des Plasma-Aktivators ähnlich.

Gegen diese Hypothese spricht das unterschiedliche Verhalten beider Aktivatoren gegen Wärme und pH-Veränderungen. Urokinase ist relativ stabil, Blutaktivator labil. Urokinase spaltet Lysin- und Argininester, Blutaktivator nur Lysinester (KJELDGAARD und PLOUG 1957).

WILLIAMS (1951) fand nach Injektion von Adrenalin eine gesteigerte fibrinolytische Aktivität im Blut ohne entsprechenden Anstieg im Urin.

Auch die Ergebnisse von HOLEMANS et al. (1966) stützen diese Theorie nicht. Die Autoren untersuchten die Urokinaseausscheidung vor und nach Injektion von Nikotinsäure bei einer Gruppe gesunder männlicher Versuchspersonen. Nikotinsäure ist ein indirektes Fibrinolytikum, d.h. nur in vivo entsteht für kurze Zeit fibrinolytische Aktivität durch Freisetzung von Spontanaktivator. In den Versuchen von HOLEMANS et al. (1966) stieg bei unverändertem Inhibitorenspiegel gegen Urokinase und Plasmin die fibrinolytische Aktivität bei allen Personen deutlich an, aber die Urokinase-Ausscheidung änderte sich nicht signifikant. Die Hypothese, daß das Glomerulusfiltrat

des Blutaktivators im Tubulussystem rückresorbiert wird und auch nach Vermehrung durch Nikotinsäure noch unter dem Schwellenwert für die tubuläre Rückresorption liegt, wird widerlegt durch die Lokalisation des Plasminogen-Aktivators in der Niere nach der Methode von TODD (1964) (WARREN 1963, HOLEMANS 1964). Die Autoren fanden im Tubulussystem keinen Plasminogen-Aktivator.

2. Hypothese: Urokinase - ausgeschiedener Gewebsaktivator.

Urokinase ist wie der Aktivator in Geweben thermostabil bei niedrigem pH-Wert im Gegensatz zum Blutaktivator. Deswegen nahm ASTRUP (1957) an, daß beide Substanzen vom Blutaktivator zu differenzieren sind. Neuere Ergebnisse (MC CALL und KLINE 1965) unterstützten diese Theorie, wenn sie zeigen, daß beide Fermente Plasminogen bei ähnlicher Temperatur- und pH-Stabilität als Katalysator aktivieren.

COLGAN et al. (1952) bestimmten die fibrinolytische Aktivität im Urin und Serum bei Hunden, die sie einer Bestrahlung von 450 bis 800 R aussetzten. 4 bis 5 Tage vor dem Tod zeigten Urin und Serum bei allen Hunden eine stark fibrinolytische Aktivität. Die Autoren schließen, daß durch die Bestrahlung eine große Menge von Gewebsaktivator aus den geschädigten Zellen freigesetzt wird, in den Kreislauf gelangt und durch die Niere ausgeschieden wird.

RIGGENBACH und v. KAULLA (1961) untersuchten die Urokinase-Ausscheidung bei gesunden Personen und bei Patienten mit malignem Tumor. Da alle Gewebe, wahrscheinlich nur mit Ausnahme der Leberzellen (STAMM 1962), im Organismus und in Zellkulturen einen Plasminogen-Aktivator produzieren (ALBRECHTSEN 1959, BARON und BARNETT 1960), glauben die Autoren, die veränderte Urokinase-Ausscheidung durch die Theorie erklären zu können, daß das Gewebe seinen Aktivator an das Blut abgibt, in dem durch Umwandlungsprozesse der Blutaktivator entsteht, der durch die Nieren ausgeschieden wird.

3. Hypothese: Urokinase - synthetisiert in der Niere.

BULUK und FURMANN (1962) bezeichnen die Niere als Kontrollorgan der Fibrinolyse. Die Autoren bestimmten die Fibrinolysezeit der Euglobulinfraktion bei Mensch und Kaninchen im Blut der vena renalis: a) vor Stase, b) nach Stase, c) nach Ligatur des Ureters (um eine Ausscheidung von Inhi-

bitoren auszuschalten) und im Blut der art. renalis. Die Fibrinolysezeit war signifikant verkürzt: a) in der vena renalis gegenüber der art. renalis, b) nach Stase der Vene. Dabei ist allerdings zu berücksichtigen, daß durch Stase regelmäßig eine Fibrinolysebeschleunigung auftritt durch Freisetzung von Plasminogen-Aktivator, wie MARX (1954) erstmals berichtete. HOLEMANS (1963) maß nach 10 min. venöser Occlusion oberhalb des Ellenbogens eine erhöhte fibrinolytische Aktivität der Euglobulinfraktion um 93, 6% bis 532, 6% (zugleich aber auch einen Anstieg eines Urokinase-Inhibitors um 9, 9% bis 26, 7%). Vermutlich wird vom Organismus, dessen hämostatisches Gleichgewicht bedroht ist, vermehrt Aktivator abgegeben (vom Endothel? von Leukozyten?) Die Angaben der Literatur über die arteriovenöse Differenz der fibrinolytischen Aktivität schwanken.

FEARNLEY und FERGUSON (1957), NAIMI et al. (1963) fanden eine kürzere Euglobulinlysezeit im venösen Blut als im arteriellen. Mit der Technik der fibrinolytischen Autographie zeigt TODD (1964), daß im venösen Endothel Plaminogen-Aktivator konzentriert ist im Gegensatz zur Arterie, die vorwiegend Proaktivator in Endothel- und Serosazellen enthält. Man kann die Vene als fibrinophil bezeichnen. CHAKRABATI et al. (1963) fanden eine signifikante arterio-venöse Differenz der fibrinolytischen Aktivität nur nach Stase oder Trauma.

PROKOPOVICZ et al. (1964) unternahmen weitere Forschungen, um die Urokinase-Bildung in der Niere zu lokalisieren. Die Autoren bedeckten Gewebsschnitte von Hundenieren mit einer dünnen Fibrinschicht und beobachteten mikroskopisch den Abbau des Fibrins. Der Plasminogen-Aktivator war angereichert vor allem in den juxtaglomerulären Zellen (= Polkissen, in denen auch die Synthese und Speicherung von Renin vermutet wird)und in der Macula densa. Außerdem scheinen die Endothelzellen der Glomerulusgefäße ein aktives Ferment zu enthalten - wahrscheinlich Plasmin. In den Markanteilen fand man keine fibrinolytische Aktivität. Mit der Methode nach TODD fand WARREN (1963) die fibrinolytische Aktivität bei Rind, Schwein und Ratte um die Glomeruli und über der Medulla renalis lokalisiert, bei Maus und Kaninchen nur über der Medulla.

Fibrinolytische Aktivität verschiedener Zellsysteme der Hundeniere (nach PROKOPOVICZ et al. 1964)

Zellsystem	Normale Hunde Substrat			Vergiftete Hunde Substrat
	PRF	PFF	Gelatine	PRF
juxtaglomeruläre Zell.	++++	-	-	-
Macula densa	++	-	-	-
Gefäßendothelien	+++	+	+	+

PRF - Plasminogen-reiches Fibrin
PFF - Plasminogen-freies Fibrin

Die gleichen Untersuchungen wurden an Hunden durchgeführt, die mit Sublimat vergiftet worden waren (PROKOPOVICZ et al. 1964, WOROWSKI et al. 1964). Der Plasminogen-Aktivator in den Gefäßendothelien war vermindert und fehlte im juxtaglomerulären Apparat vollkommen. Durch Sublimat tritt neben einer Nekrose der Tubuluszellen auch eine Schädigung des juxtaglomerulären Apparates ein. Die Autoren untersuchten das fibrinolytische System im venösen Blut der Niere und der Peripherie. Bei den gesunden Hunden ist in der vena renalis die fibrinolytische Aktivität gegenüber der Aktivität peripheren Venenblutes erhöht, der Fibrinogen- und Plasminogengehalt vermindert, Antithrombin VI als Folge einer Fibrinogenolyse nachweisbar. Bei den vergifteten Hunden fiel die fibrinolytische Aktivität im Nierenvenenplasma auf ein Zwölftel, Plasminogen- und Fibrinogengehalt waren gesteigert, Antithrombin VI nicht nachweisbar.

Einfluß der Vergiftung mit $HgCl_2$ auf einige Faktoren des Koagulations- und fibrinolytischen Systems im peripheren Blut von Hunden (nach WOROWSKI et al. 1964):

	vor der Vergiftung	nach der Vergiftung
Fibrinogen mg%	426	1161
Fibrinolyseindex	46, 4	8
Plasminogen %	100	495
Proaktivator %	100	236
Antiplasmin %	100	30
Faktor V	100	100
Faktor VII	100	100
AHG %	100	220

Die Hypothese, daß Urokinase in den Kreislauf sezerniert wird, kann deswegen folgendermaßen begründet werden:

1. durch die signifikante Erhöhung der fibrinolytischen Aktivität in der vena renalis gegenüber der Peripherie
2. durch den erheblichen Abfall der fibrinolytischen Aktivität bei Nierenschaden durch $HgCl_2$-Intoxikation.

Durch Urokinase-Infusion tritt im Plasma in gleicher Weise ein Anstieg der fibrinolytischen Aktivität mit Abfall des Fibrinogen- und Plasminogenspiegels auf (GUEST et al. 1961).

BULUK und MALOFIEJEW (1963) berichten, daß von isolierten Kaninchennieren 94% der gebildeten Urokinase in den Kreislauf sezerniert würde und nur 6% in den Urin. Danach scheint die Abgabe von Urokinase in den Urin nur von geringer Bedeutung gegenüber der wichtigeren Funktion der Niere: durch Produktion von Plasminogen-Aktivator und seiner Sekretion in das strömende Blut Kontrollorgan der Fibrinolyse zu sein.

Auf Grund dieser Hypothese muß man eine Änderung des fibrinolytischen Systems im Organismus nach Entfernung der Niere erwarten. CHO und CHO (1964) führten eine bilaterale Nephrektomie an zwei Hunden durch. Eine intravenöse Adrenalininjektion wurde von den Tieren mit einem unveränderten

Anstieg der fibrinolytischen Aktivität des Blutes beantwortet, so daß bei Berücksichtigung dieser Experimente die Niere jedenfalls nicht als das alleinige Kontrollsystem der Fibrinolyse angesehen werden kann.

PHILLIPS et al. (1959) berichten über einen Patienten, bei dem nach Nephrektomie wegen eines malignen Tumors die fibrinolytische Aktivität exzessiv anstieg. Inhibitoren-, Plasminogen- und Hämoglobinspiegel waren niedrig. Der Patient kam 20 Stunden post operationem ad exitum. Man kann den kausalen Faktor in einer starken Einschwemmung von Aktivatoren in das strömende Blut vermuten.

HOLEMANS et al. (1966) halten dafür, daß die Urokinase ihren Ursprung in der Wand der Sammelröhren, des Nierenbeckens, des Ureters und der Blase hat. Bei längerem Kontakt zwischen Urin und Gewebe könnte es zu größerer Ausscheidung kommen. Das würde die Beobachtung von BJERREHUUS (1952) erklären, daß die Urokinase-Konzentration im Urin der Diurese umgekehrt proportional ist. Dieser fand allerdings eine identische Konzentration im Urin des Nierenbeckens und der Blase, während LADEHOFF (1960) einen beträchtlichen Unterschied an Plasminogen-Aktivator in verschiedenen Abschnitten des menschlichen Harntraktes angibt.

Mittlere Konzentration des Aktivators in verschiedenen Abschnitten des menschlichen Harntraktes (nach LADEHOFF 1960):

Gewebe	Mittlere Konzentration von Plasminogen-Aktivator E/gr frisches Gewebe
Nierenkapsel	256
Rinde	84
Mark	141
Papille	135
Becken	431
Ureter	613
Str. mucosum vesicae	543
Str. muscularis vesicae	536

Im Rahmen der gesamten Organe ist der Gehalt der Niere an Plasminogen-Aktivator nicht auffallend hoch.

Konzentration der zellulären Fibrinolysokinasen in verschiedenen menschlichen Organen. Durchschnittswerte sowie Höchst- und Tiefstwerte mehrerer Untersuchungen unmittelbar post mortem. Die Meßwerte sind in Fibrinolysokinase-Einheiten nach ASTRUP und ALBRECHTSEN (1957) angegeben (nach STAMM 1962):

Organ	Einheit
Uterus	720 (450 - 900)
Nebenniere	410 (63 - 576)
Lymphknoten	378 (16 - 514)
Prostata	334 (81 - 630)
Schilddrüse	325 (189 - 504)
Lunge	223 (38 - 648)
Ovar	210 (40 - 378)
Hypophyse	140 (77 - 288)
Niere	119 (0 - 342)
Muskel	110 (14 - 324)
Herz	82 (14 - 144)
Hirn	35 (8 - 65)
Hoden	25 (0 - 68)
Milz	20 (0 - 99)
Leber	0 (0 - 6)

BARON und BARNETT (1959, 1960) fanden im serumfreien Nährmedium von Nierenzellkulturen bei Affe, Kaninchen und Mensch einen Plasminogen-Aktivator und eine Protease. Der Aktivator wurde nur von wachsenden Zellen, also wohl durch einen metabolischen Prozeß, nicht durch Zelluntergang gebildet. LACK (1964) lokalisiert den Gewebsaktivator in Nieren von Kaninchen und Mäusen in den Fraktionen von Lysomen und Mikrosomen. Der Aktivator der Zellkulturen von BARON und BARNETT (1959, 1960) in Kaliumrhodanid war löslich wie Gewebsaktivator. Dagegen zeigte der Aktivator von Nierenzellkulturen (Affe, Hund), den PAINTER und CHARLES (1962) isolierten, Wasserlöslichkeit und schien Urokinase ähnlich zu sein.

Aus Extrakten von Kaninchennieren gewannen OKAMOTO et al. (1964) zwei verschiedene Plasminogen-Aktivatoren:

1) aus dem Nierenparenchym einen Aktivator, der in hypertonischen Lösungen von KCL und KJ löslich war, labil bei saurer Reaktion, ziemlich sta-

bil bei pH 7, vollständig hemmbar durch EACA. Dieser Aktivator ist dem Blutaktivator ähnlich. Die Autoren vermuten aber, daß er nicht aus dem Blut stammt, da seine Konzentration in der Niere höher sei als im Blut.

2) aus dem Nierenbecken einen säure-stabilen Aktivator durch Kaliumrhodanid-Extrakte.

Auf Grund der Ergebnisse von CELANDER et al. (1965) und VIGORITO et al. (1965) scheint eine gewisse Synthese der Theorien möglich zu sein. Die Autoren untersuchten in vivo die Verteilung radioaktiv-markierter Urokinase in Hunden und markierter Antikörper gegen Urokinase. 5 Minuten nach Injektion von Urokinase - markiert mit Selen 75 bzw. mit Jod 125 - war Radioaktivität und vermehrte Urokinase-Aktivität in Ureter-Urin nachweisbar für 90 Minuten. Im Vergleich zu injiziertem radioaktiv-markiertem Albumin wurde Urokinase schneller aus dem strömenden Blut entfernt und in größerem Ausmaß an Gewebe gebunden, vor allem in der Nierenrinde. Man kann daraus schließen, daß die Urokinase eventuell identisch ist mit dem Plasma-Aktivator und daß die Lokalisation in der Synthese und/oder Speicherung Zellen der Nierenrinde und des Venenendothels umfaßt.

Im fibrinolytischen Aktivator des Urins liegt möglicherweise ein Komplex verschiedener Aktivatoren vor: aus dem Blut, aus Gewebe und/oder aus der Niere.

VI. Derzeitige Vorstellung über die physiologische Bedeutung der Urokinase

1. Lokale Bedeutung im Harntrakt

Nicht nur im Harntrakt, sondern in allen Kanalsystemen, in serösen Höhlen und in Gelenken läßt sich eine wasserlösliche Fibrinolysokinase nachweisen, welche die fibrinolytische Aktivität der dort vorhandenen Flüssigkeiten bewirkt, um so das Offenbleiben dieser Kanäle bzw. Höhlen zu garantieren.

Fibrinolytische Faktoren in verschiedenen Flüssigkeiten des Organismus (nach ALBRECHTSEN 1958):

Material	Pro-Akt.	Aktivator	Inhibitor	Plasminogen
normales menschl. Blut	+	-	+	+
Sekrete				
Urin	+	+	+	-
Milch	+	+	-	-
Tränenflüssigkeit	+	+	-	?
Speichel	+	+	-	?
Schweiß	-	-	-	-
Ejakulat	+	+	+	+
Transsudate				
Lymphe	+	-	+	+
Liquor	+	-	-	-
Amnionflüssigkeit	+	-	+	-

Da im Urin kein Plasminogen, Proaktivatoren und Inhibitoren auch nur in geringer Menge vorkommen, schlossen WILLIAMS (1951) und ASTRUP (1956), daß Urokinase die Aufgabe hat, die Harnwege von hämatogenen und phlogogenen Fibrinablagerungen frei zu halten durch Aktivierung des Plasminogens, das bei diesen Prozessen immer vorhanden ist.

2. Allgemeine Bedeutung

Falls die Hypothese der polnischen Autoren (BULUK et al. 1962, 1964, PROKOPOVICZ et al. 1964), die oben dargelegt wurde, zutreffen sollte, käme der Niere neben der lokalen eine allgemeine physiologische Bedeutung als Kontrollorgan der Fibrinolyse zu.

VII. Ausscheidung der Urokinase

1. Ausscheidung in Abhängigkeit von Geschlecht, Alter, Zeit

Die Urokinase-Ausscheidung des Menschen ist unabhängig vom Geschlecht (BJERREHUUS 1952), vom Alter und vom Harnvolumen. Bei gesunden Personen ändert sich die täglich ausgeschiedene Menge nur geringfügig (SMYRNIOTS et al. 1959). GUEST und CELANDER (1961) geben allerdings eine durchschnittlich variierende Ausscheidung von 300 - 900 E (Celander-Guest) pro 24 Stunden an. Bei einem gesunden Individuum schwankte die tägliche Ausscheidung innerhalb von 9 Tagen zwischen 243 und 1180 Einheiten.

Es besteht nur eine lockere Beziehung zwischen dem Urokinasegehalt des Urins und seinem spezifischen Gewicht (RIGGENBACH und v. KAULLA 1961). Bei pH 6 bis 8 und niedriger Temperatur bleibt die Urokinase-Aktivität des Urins für Tage stabil. Die Temperatur von 25°C bewirkt Verlust von 20%, 37°C Verlust von 50% der Originalaktivität nach 8 Tagen. Ein pathologisches Urinsediment beeinflußt die Aktivität ebensowenig wie das Vorkommen von Bakterien (B. coli, Staphylokokkus aureus, Proteus vulgaris, Ps. aeruginosa und Saprophyten) (SMYRNIOTS et al. 1959).

2. Ausscheidung unter pathologischen Verhältnissen

SMYRNIOTS et al. (1959) stellten eine vermehrte Aktivatorausscheidung im Urin nach Myocardinfarkt für ungefähr vier Wochen fest und nach einem Anfall von Koronarinsuffizienz (bedingt durch die cardiale Ischaemie?). Die Ausscheidung war vermindert bei Patienten mit Carcinose (Ursache begleitender Venenthrombosen?), cardialer Stauung und fortgeschrittener Urämie bei nephrotischem Syndrom nach EDWARD et al. (1964). Bei anderen Nierenleiden wich die Ausscheidung nicht signifikant ab. GUEST und CELANDER (1961) beobachteten eine verminderte Ausscheidung bei Neoplasmen, Muskeldystrophie, nach Herzinfarkt, Verbrennungen 3. Grades; eine erhöhte Aktivatorausscheidung bei Herzoperationen mit extracorporalem Kreislauf, bei hyperfibrinolytischen Krisen, nach physiologischen Anstrengungen. Auch nach Röntgenbestrahlung wurde eine vermehrte Ausscheidung gefunden (YAMASHITA et al. 1959). v. KAULLA (1963), der sich sehr eingehend schon seit 1949 mit der Urokinase-Ausscheidung beim Menschen befaßte, kommt mit anderen Meßmethoden zu demselben Ergebnis wie SMYRNIOTS et al. (1959). Er konnte mehrmals eine spontane Fibrinolyse bei Herzoperationen mit extracorporalem

Kreislauf beobachten, fand dabei aber die Urokinase-Ausscheidung nicht signifikant erhöht. Bei chirurgischen Eingriffen war zugleich mit der gesteigerten fibrinolytischen Aktivität oft die Urokinase-Ausscheidung vermehrt. V. KAULLA (1963) stellt auf Grund der starken Erniedrigung der Urokinase-Ausscheidung im praeterminalen Carcinomstadium die Theorie auf, daß die Zellen nicht genügend Aktivatoren bilden, weil ihre Funktionen, die für diese Produktion notwendig wären, durch den Gesamtzustand des Organismus verändert sind.

Ob die Änderung der Urokinase-Exkretion bei infauster Prognose auf eine vitale Funktion der Urokinase hinweist, inwieweit dabei faßbare Änderungen im Blut (Proaktivator, Aktivator) parallel gehen, sind noch offene Probleme.

3. Ausscheidung exogen zugeführter Urokinase

Nach intravenöser Zufuhr soll nach BAUMGARTEN et al. (1964) nur die homologe Urokinase im Urin erscheinen, ungefähr 10% nach 1,5 - 2,5 Stunden. FLETCHER et al. (1964) fanden weniger als 5%; mit Jod 131 markierte Urokinase wurde beim Hund innerhalb von vier Stunden zu 18,08% im Urin ausgeschieden (BACK, AMBRUS et al. 1961). Fünf Minuten nach der Injektion war 90 Minuten lang Radioaktivität und gesteigerte fibrinolytische Aktivität im Urin nachweisbar (CELANDER et al. 1965). Versuche von GUEST und CELANDER (1961) zeigen, daß humane Urokinase die Glomeruli des Kaninchens passieren kann, denn nach der Injektion steigt die fibrinolytische Aktivität des Urins an und Urokinase, gewonnen aus dem Urin des Kaninchens, erzeugt in Meerschweinchen, die gegen humane Urokinase sensibilisiert wurden, einen anaphylaktischen Schock.

Es ist - bisher wenigstens - nicht möglich, aus der variierenden Quantität des fibrinolytischen Aktivators im Urin theoretische (in bezug auf Pathogenese) oder praktische (Diagnose, Prognose von Krankheiten) Schlußfolgerungen zu ziehen.

VIII. Bestimmung der Urokinase-Aktivität im Urin

Die Quantität der Urokinase im Urin wird wie die der Fibrinolysokinasen anderer Körperflüssigkeiten durch den Abbau von Fibrin oder anderer geeigneter Proteine als Substrat erfaßt. Die Meßmethodik stützt sich darauf, einen der folgenden Faktoren zu bestimmen:

1. Messung der Zeit, die zur Lyse einer bestimmten Proteinmenge benötigt wird.
2. Messung der Proteinmenge, die in einer bestimmten Zeit gespalten wird.
3. Messung der durch Fibrinabbau frei werdenden Substanzen.

Es wird immer ein Teilvorgang der Fibrinolyse gemessen. Bei ungereinigten Systemen wird dabei das Resultat durch mehr oder weniger starke Einwirkung anderer Faktoren in der Testsubstanz oder im Substrat beeinflußt. Daher sind die Ergebnisse stets kritisch zu betrachten. Der Gehalt des Urins an Inhibitoren (ASTRUP et al. 1955) und an Proaktivator (mit Streptokinase-Zusatz gemessen von GUEST und CELANDER 1961) ist gering. Harn ist normalerweise frei von Plasminogen, enthält aber in wechselnder Menge andere proteolytische Fermente (Urotrypsin, Uropepsin).

1. Fibrinplattenmethode

Ein großer Teil der Autoren verwendet Rinderfibrinplatten als Substrat. Der Urokinasehaltige Urin aktiviert an den Impfstellen das überschüssig vorhandene Plasminogen; das aktive Plasmin bewirkt Substratlyse. Die Größe der Lysehöfe als Produkt zweier senkrecht aufeinander stehender Durchmesser wird nach einer bestimmten Inkubationszeit gemessen (ASTRUP u. MULLERTZ 1952; ASTRUP und STERNDORFF 1952, 1956; PLOUG und KJELDGAARD 1957; DOLESCHEL und AUERSWALD 1960; HOLEMANS 1966). Es wird frischer unverdünnter oder verdünnter Urin verwendet nach Dialyse gegen Puffer oder Leitungswasser.

2. Reagenzglasmethode

COLGAN et al. (1952), GUEST (1954), CELANDER et al. (1960) geben eine Reagenzglasmethode an. Fibrinogen wird durch Thrombin zur Gerinnung gebracht. Es wird die Inkubationszeit gemessen, die zur Lyse des Gerinnsels notwendig ist.

3. Caseinolytische Methode

RIGGENBACH und v. KAULLA (1961), v. KAULLA (1963) entwickelten eine neue Methode, da an der Fibrinplatte der Urin durch die Pufferlösung ständig verdünnt wird. Außerdem kann dabei nicht die Urokinase-Aktivität von anderen Proteasen getrennt werden. Die Plasminogen-Aktivierung ist eine zeitverbrauchende Reaktion, dessen Geschwindigkeit weitgehend von der Urokinase-Konzentration abhängig ist. Die Proteolytische Reaktion ist deswegen schon im Gang, wenn die Plasminogen-Aktivierung beendet ist. Diese zeigt sich in den Ergebnissen besonders bei niedriger Urokinase-Konzentration. Der Einfluß von Urinkonzentration, Inhibitoren der Proteolyse, Elektrolytgehalt des Urins sollten als Irrtumsquellen weitgehend ausgeschaltet werden. Die Autoren dialysieren zunächst ein Gemisch von 1 ml frischem Urin, 1 ml Citratplasma und 19 ml aqua dest. 90 Minuten gegen eiskaltes Leitungswasser. Während der Dialyse wird das Plasma-Plasminogen durch Urokinase aktiviert, der Plasmin-Inhibitor-Komplex soll dissoziieren. Durch die niedrige Temperatur bleibt Plasmin stabil. Darauf folgt die Euglobulinpräzipitation und Zentrifugation, um die Inhibitoren zu eliminieren. Die Euglobulinfraktion wird mit standardisiertem Casein 90 Minuten inkubiert, dann wird das freie Tyrosin spektophotometrisch bestimmt. Es ist direkt proportional der Plasminmenge in der Euglobulinfraktion, die Plasminmenge wiederum direkt proportional der Urokinasemenge im Urin.

Eine caseinolytische Methode für verdünnte Urokinase-Präparate geben auch SGOURIS et al. (1962) an.

4. Direkte Bestimmung durch Spaltung synthetischer Ester

Einen Versuch, die enzymatische Aktivität des Urins direkt zu bestimmen, machten SHERRY et al. (1964). Urokinase spaltet verschiedene synthetische Ester. Es zeigte sich jedoch, daß das Substrat Acetyl-Lysin-methylester (ALMe) zwar zur Messung konzentrierter Urokinase-Präparate sehr geeignet ist, aber nicht empfindlich genug zur Urokinase-Bestimmung des Urins. Außerdem wurde noch nicht untersucht, ob weitere Substanzen im Urin vorkommen, die Lysinester spalten.

IX. Urokinase-Konzentrate

1. Methoden und Ausbeute

ASTRUP und STERNDORFF (1952) stellten durch Präzipitation mit konzentriertem Alkohol, Zentrifugieren und Dialyse das erste Trockenpräparat her. Die Ausbeute betrug 800 mg/l und 60% der Originalaktivität. 1955 beschrieben die Autoren die Adsorption mit Tricalciumphosphat, dabei soll der Aktivator allein adsorbiert werden, der Inhibitor in Lösung bleiben (3, 5 - 4, 5 mg Trockensubstanz/ml Urin, 60% der Originalaktivität).

v. KAULLA (1954) erhielt durch Adsorption mit $BaSO_4$ und anschließender Elution einen Puder mit fibrinolytischen und thromboplastischen Eigenschaften. Dieses Verfahren wurde von SGOURIS et al. (1960) weiter ausgebaut mit einer Ausbeute von 30% bis 40% der Originalaktivität. Die gewonnene Substanz zeigte keine thromboplastische Eigenschaft mehr, noch eine proteolytische Aktivität durch Uropepsin.

CELANDER und GUEST (1955 a und b, 1960) konzentrierten 80% der Urokinase-Aktivität in 5% des Originalurinvolumens durch ein Schaumverfahren mit Adsorption an Kieselsäure, Elution durch NH_4OH und Chromatographie an DEAE Zellulose. ROSCHLAU und PAINTER (1962) stellten ein ähnliches Präparat her.

Durch Adsorption an Silicatgel, Elution mit NH_3-Lösung und Chromatographie an Ionenaustauschern gewannen PLOUG und KJELDGAARD (1957) aus 300 l Urin 150 mg eines Urokinase-Präparates mit größerer Reinheit und Aktivität.

Weitere Verfahren entwickelten:

SGOURIS et al. (1962) mit Adsorption und Elution von einem Kationenaustauscher, Fällung mit 20%igem Alkohol und Elution an einem Ionenaustauscherharz, Dialyse.

BERGSTRÖM (1964) mit Adsorption an Hyflosupercel und Elution mit Ammoniak. Die Ausbeute betrug 600 mg Urokinase aus 100 Liter Urin, die Aktivität 600 Ploug E/mg. DOLESCHEL und AUERSWALD (1960) untersuchten das Verhalten der Urokinase gegenüber Adsorbentien und anschließender mehrfacher Elution mit verschiedenen Puffern. Metallhydroxyde mit hohem

Hydrationsgehalt bzw. Substanzen mit großer aktiver Oberfläche konnten bei geringer Menge die Urokinase der Ausgangslösung vollständig adsorbieren. Aluminiumhydroxyd erwies sich als optimales Adsorbens.

2. Einheiten der Urokinase

Die Urokinase-Präparate der verschiedenen Autoren sind in bezug auf ihre Aktivator-Aktivität schwer vergleichbar, da viele verschiedene Einheiten eingeführt wurden.

Vom Committee on Thrombolytic Agents (CTA) National Heart Institute, USA, wurde eine Standardeinheit der Urokinase-Aktivität festgesetzt mit Hilfe der direkten Bestimmung durch Hydrolyse von Acetyl-Lysinmethylestern (ALMe) (SHERRY et al. 1964). Dabei wird das schwierige Problem der Standardisierung der Reagentien, die an der Fibrinolyse beteiligt sind, vermieden. Es wurde definiert als Urokinase Einheit:

1 CTA Einheit = ALMe-esterase Aktivität von $0{,}77 \times 10^{-3}$ µmol/min

= ALMe-esterase Aktivität von $46{,}2 \times 10^{-3}$ µmol/h

1 ml Harn hat eine durchschnittliche Konzentration von 5 CTA Einheiten. Da auch Plasmin, Trypsin und Thrombin ALME spalten, müssen die Ergebnisse bei Enzymgemischen kritisch interpretiert werden (SHERRY et al. 1964, 1965).

Nach SHERRY et al. (1964) entsprechen sich folgende Einheiten:

1 CTA E = 2 ABBOT E = 12 E STERLING-WINTHROP = 0,7 E PLOUG
= 11 E SGOURIS

CELANDER und GUEST (1960) verglichen folgende Einheiten:

1 E CELANDER-GUEST = 10 E LEO = 80 E SMYRNIOTS = 1/10 E KAULLA

Die Präparate nach CELANDER und GUEST (1960) enthalten 6 000 Einheiten CELANDER-GUEST/mg Protein,
nach ROSCHLAU und PAINTER 1 260 Einheiten PLOUG/mg Protein,
nach LESUK et al. (1965) 104 000 CTA E/mg Protein.
Zur Therapie verwandten FLETCHER et al. (1965) Urokinase mit einer Aktivität von 35 000 CTA E/mg Protein.

Zur Bestimmung der Urokinase-Aktivität der Konzentrate eignen sich neben den oben beschriebenen indirekten Methoden (Messung der Lysehöfe an der Fibrinplatte, der Lysezeit von Standardgerinnseln, caseinolytische Methode) besonders gut die direkte Messung ohne Entstehung des Plasminogen-Plasmin Systems (SHERRY et al. 1964) (LORAND u. MOZEN 1964).

3. Eigenschaften der Urokinase-Präparate

Gereinigte Urokinase ist ein farb- und geruchloses wasserlösliches Protein.

a) Aktivität: Urokinase ist aktiv bei pH 4 bis 10, das pH Optimum liegt bei 9 (KJELDGAARD und PLOUG 1957).

b) Stabilität: Urokinase ist im Bereich von pH 1 bis 10 bei 50°C stabil, nach 30 Minuten zeigte sich keine Abnahme der Aktivität. Bei pH 7, 25 wurden 50% bei einer Temperatur von 80°C für 15 Minuten (CELANDER et al. 1955) zerstört. Hitze von 60°C für 10 Stunden bei pH 6, 7 in 0, 3 M NaCL mit 0, 01 M Na_3PO_4 Puffer zerstört 25% bis 35% der Aktivität (SGOURIS et al. 1960). Bei höherer Temperatur zeigt Urokinase die höchste Stabilität im sauren Milieu. Nach Zerstörung des Uropepsins ergab sich auch im sauren Urin (pH 3) kein Aktivitätsverlust (KJELDGAARD und PLOUG 1957). In allen Reinigungsstufen sind Urokinase-Präparate bei 2°C wahrscheinlich über Jahre haltbar. Nach Lagerung des Präparates von BERGSTRÖM (1964) bei Zimmertemperatur war nach 6 Monaten keine Aktivitätsabnahme feststellbar.

c) Zusammensetzung: KJELDGAARD und PLOUG (1957 a) beschreiben die elementare Zusammensetzung folgendermaßen:

14, 11% N; 46, 55% C; 7, 35% H; 1, 5% S; 0, 3% P; 0,61% Asche.

Neuerdings wurde die Urokinase als Glykoproteid beschrieben (DE BARBIERI und SCEVOLA 1963). Sie soll 4, 1% Kohlenhydrate enthalten, vor allem Glucose, Galaktose und Mannose. Die Autoren beschrieben nach chromatographischer Analyse das Vorhandensein von 16 Aminosäuren, hauptsächlich sollen Glutamin- und Asparaginsäure vorkommen mit 30, 5%, Leucin und Isoleucin mit 12, 4%.

d) Molekulargewicht: LESUK et al. (1965) berechneten ein Molekulargewicht für kristalline Urokinase in der Größenordnung von 54 000 unter der Annah-

me, daß das spezifische Partialvolumen 0, 735 ml/g bei 10°C und pH 6, 8 ist.

e) Elektrophoretische Reinheitsgrade: MC NICOL et al. (1963, 1964) untersuchten das Handelspräparat der Leo-Werke, Dänemark, elektrophoretisch. Es zeigte vier Komponenten und ließ damit vermuten, daß seine thromboplastische Eigenschaft auf Verunreinigung beruht. Durch Elektrophorese erhielten PLOUG und KJELDGAARD (1957) drei Komponenten mit den relativen Konzentrationen von 22%, 37% und 41%, deren fibrinolytische Aktivität in der Komponente B lokalisiert war.

DOLESCHEL und AUERSWALD (1960) berichten folgende Versuchsergebnisse:

Papierelektrophorese mit 250fach angereicherten Präparaten zeigte die Hauptaktivität mit 80% im Bereich der α/ß Globuline, im ß/γ Bereich war noch eine geringe Aktivität vorhanden. Urokinase ist wahrscheinlich zu einem wesentlichen Teil ein Protein dieser Mobilitätsklasse oder an ein solches gebunden. Der Grund dafür, daß Urokinase in die γ-Globuline hereinreicht, könnte darin liegen, daß ein Gemisch mehrerer Komponente vorliegt, falls die Methode ausreichend ist.

Ein Präparat mit nur einer elektrophoretischen Komponente gewann erstmals LESUK (1965). Durch Kristallisation und mehrfache Rekristallisation hochgereinigter Urokinase mit einer Ausgangsaktivität von wenigstens 40 000 CTA E/mg Protein, das elektrophoretisch nicht mehr als drei Komponenten zeigte, gewann der Autor Urokinase-Kristalle. Nach zwei bis drei Rekristallisationen entstand ein Stoff mit konstanter spezifischer Aktivität und hohem spezifischem Gewicht. Die höchste spezifische Aktivität betrug 104 000 $\pm$ 4 800 CTA E/mg Protein oder 652 000 $\pm$ 29 000 CTA E/mg Stickstoff. Ausbeute: 29 mg aus 2 300 Litern Urin! Die Urokinase-Kristalle sind dünne farblose Tafeln von ungewöhnlicher Zerbrechlichkeit und Sprödigkeit. Das kristalline Urokinase-Präparat zeigte nach Ultrazentrifugation bei pH 2, 1 und 6, 8 ein einziges symmetrisches Sedimentationsband.

f) Esteraseaktivität: Urokinase vermag verschiedene synthetische Ester zu spalten:

Tolyensulfinyl-Argininmethylester (TAMe)
Benzoyl-Argininmathylester (BAMe)
Lysinmethylester (LMe)

Lysinaethylester (LEe) (KYELDGAARD et al. 1957; SHERRY et al. 1957).

Das pH-Optimum der Esteraseaktivität liegt bei pH 9. Diese Ester stellen kompetitive Inhibitoren der Plasminogen-Aktivierung durch Urokinase dar und weisen so darauf hin, daß die Plasminogen-Aktivierung und die Esteraseaktivität durch dieselben aktiven Gruppen im Enzym bedingt sind. Es werden dieselben Ester gespalten wie von der Carboxypolypeptidase Plasmin. Außerdem sollen auch Nitrophenylester hydrolisiert werden (LORAND et al. 1964). Diese Ester stehen außerhalb der spezifischen Molekülkonstellation mit den Aminosäuren Arginin oder Lysin.

g) Proteolytisches Ferment: Da Urokinase in hoher Konzentration Casein hydrolysiert und einen Heparin-Protein-Komplex enzymatisch abbaut, ist der Urokinase eine direkte proteolytische Wirkung zuzuschreiben. Die Abnahme der optischen Dichte des Komplexes ist der Urokinase-Konzentration proportional (SHERRY et al. 1957; KJELDGAARD et al. 1957).

h) Plasminogen-Aktivierung: Plasminogen wird von Urokinase durch eine enzymatische Reaktion 1. Ordnung mit einem pH Optimum von 9 in das aktive Plasmin umgewandelt (SHERRY et al. 1956; ALKJAERSIG et al. 1958; PLOUG et al. 1957). Die maximal gebildete Plasminmenge ist proportional der Plasminogenmenge und unabhängig von der Urokinase-Konzentration. Bei der proteolytischen Spaltung des Plasminogenmoleküls werden signifikante Mengen von säurelöslichem Nitrogen und Polysacchariden frei. ROBBINS et al. (1965) erzielten eine vollständige Aktivierung einer Einheit Plasmin durch 20 bis 30 E PLOUG Urokinase bei pH 9 in Tris-lysin Puffer bei 25° C in 5 Minuten.

Jeder Aktivator transformiert wahrscheinlich Plasminogen durch einen proteolytischen Prozeß, bei dem Lysin- und/oder Argininbindungen gespalten werden (SHERRY 1959).

4. Reinigung der Urokinase-Präparate

a) Reinigung von Uropepsin: Man hielt die Urokinase anfangs für labil im sauren Milieu (ASTRUP und STERNDORFF 1952), bis erkannt wurde, daß Urokinase durch Uropepsin im sauren Urin zerstört wird. Uropepsinogen erscheint regelmäßig im Urin gesunder Personen. Aus den Hauptzellen der Ma-

genschleimhaut wird es in das Blut abgegeben und im Urin unter physiologischen Verhältnissen in konstanter Menge ausgeschieden, bei Stress und Erkrankungen ändert sich die Quantität. Bei Ansäuerung des Urins geht Uropepsinogen in Uropepsin über und entfaltet bei pH 1, 5 - 3, 5 proteolytische Wirkung.

KICKHÖFEN et al. (1958) untersuchten verschiedene Urokinase-Präparate auf ihren Gehalt an Uropepsin. Durch Chromatographie an DEAE Zellulosesäulen und durch Trägerelektrophorese (Polyvinychlorid - Geon Resin und Stärke) versuchen die Autoren Uropepsin von Urokinase zu trennen. Die Ausbeute betrug bei der Chromatographie 54% Urokinase, 67% Uropepsin; bei Elektrophorese: 43% Urokinase, 53% Uropepsin. Zusatz von 5%- und 20%iger Ammoniaklösung bei pH 11, nach 1/2 bis 2 Stunden Neutralisierung mit Eisessig und anschließende Dialyse bewirkte eine 30%ige irreversible Uropepsininaktivierung ohne Beeinflussung der Urokinase-Aktivität.

Von den untersuchten Präparaten:
Urokinase nach ASTRUP und STERNDORFF (1952)
Urokinase nach v. KAULLA (1956)
Urokinase nach PLOUG und KJELDGAARD (1957)
zeigt nur das letztere keinen meßbaren Anteil an Uropepsin. Durch Auflösung der Urokinase-Präparate im Urin, der mit Salzsäure angesäuert wurde, konnte die direkte Abhängigkeit der Urokinase-Stabilität im Urin bei pH 3 durch den Abfall der Aktivität dokumentiert werden. SGOURIS et al. (1962) wiesen die Uropepsinfreiheit ihrer Präparate nach durch die fehlende proteolytische Reaktion an Humanalbuminplatten, die für Pepsin und Urin charakteristisch ist.

b) Reinigung von Trypsin-Inhibitor: DILLARD (1950) fand Protease-Inhibitoren im Urin, die von SHULMAN (1955) und ASTRUP und STERNDORFF (1955) isoliert werden konnten. Der Hemmstoff bildet einen fast irreversiblen Komplex mit Trypsin, während er mit anderen Proteasen oder Plasminogen-Aktivator kaum oder gar nicht reagiert. Relativ hitzestabil im sauren Milieu, wird er bei neutraler oder alkalischer Reaktion zerstört. Durch Adsorption an Tricalciumphosphat läßt sich der Plasminogen-Aktivator vom Trypsininhibitor trennen. Gereinigte Urokinase-Präparate weisen keine Antitrypsinaktivität auf.

c) Reinigung von thromboplastischen Substanzen: Als v. KAULLA (1954) das erste Urokinase-Konzentrat aus menschlichem Urin darstellte, erhielt er einen Stoff mit fibrinolytischer und thromboplastischer Eigenschaft. Später konnte festgestellt werden, daß Urokinase selber keine thromboplastische Aktivität hat,

sondern daß diese allein auf Verunreinigung des Präparates beruht. v. KAULLA (1956) extrahierte das thromboplastische Material durch Adsorption an $BaSO_4$ und nachfolgende Elution aus normalem menschlichem Urin. Azeton zerstört bei niedriger Temperatur die verbliebenen thromboplastischen Reste in den Urokinase-Präparaten.

Durch Porzellanfilter kann Urokinase und thromboplastisches Material aus dem Urin adsorbiert und durch Elutionen mit aqua dest. und 2 M KSCN getrennt werden (v. KAULLA 1959). Quelle und physiologische Bedeutung dieses thromboplastischen Stoffes sind unbekannt.

Die Handelspräparate der Leo-Werke waren offenbar für die Therapie zunächst nicht genügend rein (MC NICOL und DOUGLAS 1964). SGOURIS et al. (1960, 1962) konnten keine Verkürzung der Rekalzifizierungszeit durch ihre Präparate feststellen. Es konnte inzwischen ein Urokinase-Präparat entwickelt werden, das keine Hyperkoagulabilität mehr nach sich ziehen soll (FLETCHER et al. 1964, 1965).

X. Klinische Bedeutung der Urokinase

1. Haematurie

Es entspricht einer bekannten Tatsache, daß Blutungen aus dem Urogenitaltrakt häufig fibrinolytischer Natur sind. Ursachen für die lokale Verstärkung lytischer Aktivität sind der Gehalt des Urins an Urokinase und des Uterus an Gewebskinasen.

a) Haematurie nach Prostata-Operationen

In den letzten Jahren mehrt sich die Literatur über die therapeutische Beeinflussung der starken Blutung nach Prostata-Operationen. Nicht selten treten - manchmal erst nach 24 bis 48 Stunden - erhebliche Nachblutungen als Folge von Prostatektomien oder Resektionen auf. Die postoperative Hämostase hängt neben sorgfältiger lokaler Blutstillung vom lokalen Verhältnis der Fibrinbildung und Fibrinauflösung ab. Bei Niere und Prostata ist ein Parenchymdefekt zusätzlich noch dem Kontakt mit Urokinase-haltigem Harn ausgesetzt, dessen Bedeutung für eine gestörte Blutstillung erstmals von MC NICOL et al. (1961 a und b) postuliert wurde.

Die Prostata ist reich an Gewebsaktivator, der - zeitweise bei Prostata-Adenom, metastasierendem Prostatacarcinom oder während der Operation in das Blut abgegeben - bei ungenügender Neutralisation des aktivierten Plasminogens durch Antiplasmin die fibrinolytische Globalaktivität des Blutes steigert. Es kann aber auch durch Einschwemmung eines thromboplastischen Aktivators, dessen individuell variierender Gehalt in der Prostata nachgewiesen wurde, eine Thrombose auftreten (LADEHOFF et al. 1961).

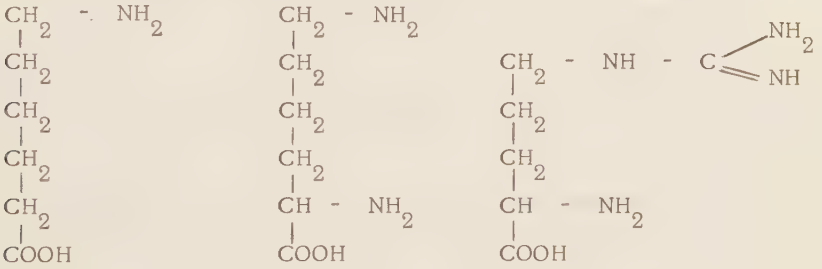
Postoperativ kann also der Wundschorf des Prostatabettes durch folgende Faktoren angegriffen werden (SCHMUTZLER und FÜRSTENBERG 1966):

1. exogen: durch Gewebsaktivator des restlichen Prostatagewebes nach Resektion und aus der Kapsel des Prostatabettes nach der Ektomie. (In der Kapsel ist die Aktivator-Aktivität größer als im zentralen Teil.)
2. exogen: durch den das Wundbett überfließenden Harn, der in der Urokinase einen starken physiologischen Plasminogen-Aktivator besitzt.
3. endogen: durch möglicherweise im Wundfilm eingeschlossenes Plasmin, aktiviert durch fibrinolytischen Gewebsaktivator, der während der Operation in die venöse Strombahn eingeschleppt wurde.

Nach den Untersuchungen von PIPER et al. (1965) soll die lokale fibrinolytische Aktivität für das Ausmaß der Nachblutung maßgebend sein. Die Autoren beobachteten bei 18 von 24 Patienten einen Anstieg der fibrinolytischen Aktivität im zirkulierenden Blut, die aber nie so stark war, daß sie zur Fibrinogenolyse führte. Eine Korrelation zwischen der fibrinolytischen Aktivität des Venenblutes und der postoperativen Blutung war nicht festzustellen.

Durch Hemmung der Urokinase-Aktivität mittels Epsilonaminocapronsäure (EACA) konnten verschiedene Autoren einen signifikant verminderten Blutverlust nach Prostata-Operationen erzielen.

Die Japaner fanden bei der Durchtestung Tausender körperfremder Stoffe auf ihre antifibrinolytische Eigenschaft in EACA eine Substanz, die in vitro und in vivo die Fibrinolyse schnell und wirksam hemmt (OKAMOTO et al. 1959). EACA steht den beiden spezifischen Aminosäuren Lysin und Arginin, deren Ester durch Urokinase gespalten werden können bzw. auf die Plasmin als Carboxypolyptidase spezifisch wirkt, sehr nahe.



EACA | Lysin (-Diaminocapronsäure) | Arginin

Die Wirkung der EACA ist konzentrationsabhängig. Wesentlich stärker als Lysin hemmt EACA die Aktivierung von Plasminogen durch Urokinase und Streptokinase kompetitiv in Konzentrationen unter 5×10^{-4}M, während Plasmin durch eine niedrige Konzentration vermehrte Aktivität zeigt und erst bei Dosierungen von 10^{-2}M EACA gehemmt wird (ALKJAERSIG et al. 1959 b; MC NICOL et al. 1961 a). Der Inhibitoreffekt auf Urokinase und Streptokinase soll etwa gleich groß sein (BLIX 1962 a). Urokinase wird bei einer Konzentration von 10^{-4}M EACA zu 4% bis 40% gehemmt, bei 10^{-1}M EACA zu 88% bis 92% (ANDERSON 1962). HEIMBURGER und SCHWICK (1962) erklären die kompetitive Hemmung auf Streptokinase durch Studien mit Fibrinagar-Elektro-

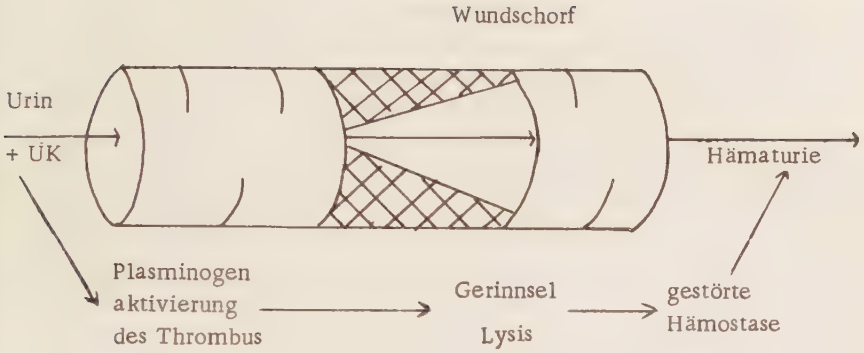
phorese dadurch, daß EACA an den Proaktivator-Plasminogen-Komplex gebunden wird und dabei Streptokinase aus dem Komplex verdrängt.

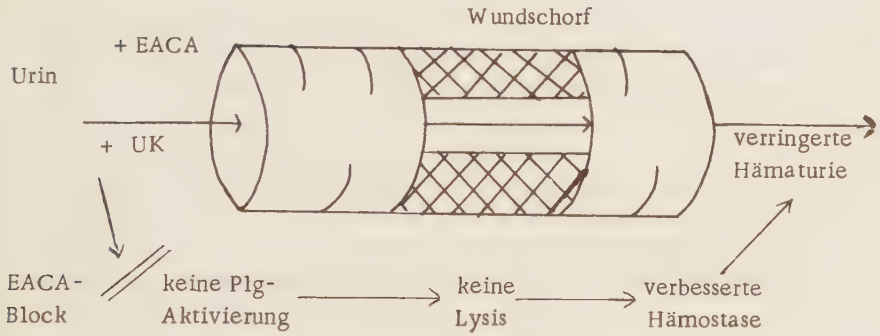
Nach oraler Aufnahme wird EACA schnell resorbiert, im intra- und extravaskulären Raum verteilt. Sie dringt rasch in Erythrozyten und Gewebszellen ein und erreicht nach zwei Stunden maximale Wirkung. Ungefähr 80% einer einzigen oralen oder intravenösen Dosis werden innerhalb von zwölf Stunden renal ausgeschieden, so daß nur ein kleiner Teil der EACA metabolisiert werden kann.

Ein Plasmaspiegel von 10^{-3}M (13 mg%) EACA hemmt eine systematisierte Fibrinolyse. Er kann erreicht und aufrecht erhalten werden durch eine orale oder intravenöse Initialdosis von 4 bis 5 gr mit einer Erhaltungsdosis von 1 gr/h. Bei diesem therapeutischen Spiegel beträgt die Clearance 75% der Kreatininclearance. Wegen der renalen Konzentration der EACA kann ein wirksamer Inhibitorspiegel im Harntrakt erreicht werden durch Dosierungen, die nur leichte systematisierte Wirkung haben (MC NICOL et al. 1961 a; weitere Literatur bei SWEENEY et al. 1965). Die Urokinase-Ausscheidung ändert sich durch die Therapie mit EACA nicht.

MC NICOL et al. (1961 a) therapierten 13 Patienten nach Prostataresektion mit 1 gr EACA/h über 4 Stunden, anschließend 0, 5 gr EACA/h über 8 Stunden, also mit einer Totaldosis von 8 gr EACA in 10%iger Lösung intravenös. Der Blutverlust verringerte sich auf ein Viertel im Vergleich zur Kontrollgruppe, auch die Blutungsdauer war verkürzt. Am ersten Tag post operationem wurden 60% der gegebenen Dosis ausgeschieden, das entsprach einer Urinkonzentration von 10^{-2}M, damit wurde die Urokinase-Aktivität völlig gehemmt. Am zweiten Tag wurden 20% der EACA ausgeschieden, wodurch 60% der Urokinase gehemmt wurden. Am dritten Tag konnte nur noch bei zwei Patienten EACA im Urin nachgewiesen werden mit einer Hemmung der Urokinase-Aktivität von 13% bis 16%. Die Vollblutgerinnungszeit war bei den mit EACA behandelten Patienten prae- und postoperativ normal. Die Menge des entfernten Prostatagewebes zeigte sich ohne Bedeutung.

Die Wirkung der EACA auf die Hämostase im Harntrakt läßt sich durch die folgende Zeichnung schematisch wiedergeben (nach MC NICOL et al. 1961 b):





Gute Ergebnisse durch EACA nach Prostatektomien wurden auch von ANDERSSON (1964) berichtet. Die peroperative Blutung wurde durch EACA nicht beeinflußt, aber die postoperative Hämaturie wurde signifikant verringert. EACA hatte keinen Einfluß auf thrombo-embolische Komplikationen und ermöglichte eine gleichzeitige Antikoagulantientherapie.

LADEHOFF und OTTE (1963) begannen bei 29 Patienten mit transvesicaler Prostatektomie direkt vor Operationsbeginn mit 6 gr EACA intravenös. Der Patientengruppe 1 wurden weiter appliziert: 6 gr EACA i.v. 6 Stunden später 6 gr EACA oral alle 6 Stunden bei einer Behandlungsdauer von 24 Stunden, insgesamt 24 gr EACA. Bei der Patientengruppe 2 wurde die Behandlung verlängert auf 96 Stunden, Gesamtdosis 96 gr EACA.

Vergleich des durchschnittlichen Blutverlustes in ml zwischen der Kontrollgruppe und der EACA-Gruppe 1 und 2 (LADEHOFF und OTTE 1963):

	Zahl der Fälle	während der Op.	Rest des 1. Tages	totaler post-op. Blutverl.
Kontrollgruppe	25	579	276	461
EACA-Gruppe 1	10	362	28	209
EACA-Gruppe 2	19	492	17	56

Die peroperative Blutung konnte auch von diesen Autoren nicht beeinflußt werden, sie stellt hauptsächlich ein technisches Problem dar. Durch EACA kann während der Operation nur eine eventuelle fibrinolytische haemorrhagische Diathese verhütet werden.

Eine Dosierung von 1 gr/10 kg alle 4 bis 5 Stunden wegen der schnellen Ausscheidung empfehlen NILSSON et al. (1961 c), die über 8 Prostatapatienten (darunter zwei Carcinome) berichten.

OSWALD et al. (1964) therapierten bei einem Patientengut mit 236 Elektroresektionen der Prostata in 14 Monaten 125 Patienten mit EACA. Bis zur makroskopischen Blutfreiheit des Urins wurden 12 bis 20 gr EACA in 3 bis 5 Injektionen zu je 4 gr verbraucht. Der durchschnittliche Blutverlust betrug bei dieser Therapie bei Prostataadenomen 279 ml gegenüber 504 ml in der Kontrollgruppe.

Die Kombination von EACA mit Trasylol wird von SCHMUTZLER et al. (1966) empfohlen. Wie PIPER (1965) fanden die Autoren mit Kallikrein allein keine hämostyptische Wirkung im Bereich der ableitenden Harnwege - obwohl in vitro Urokinase durch Trasylol und EACA im gleichen Ausmaß gehemmt wird - da Trasylol in Leber, Milz und Niere angereichert, dort abgebaut und zerstört wird (WERLE, TRAUTSCHOLD 1961) und nur in Spuren im Urin erscheint. Auf das Potenzierungsphänomen durch Kombination von EACA und Kallikrein-Inaktivator wies MARX (1962 a) hin. Die Kombination wird von SCHMUTZLER (1966) als Therapie der Wahl angesehen, da EACA im Bereich der ableitenden Harnwege als Hämostyptikum wirkt, aber gleichzeitig die Tendenz zu lokaler und allgemeiner Thrombosierung verstärken soll. Trasylol wirkt bei über 200 000 Einheiten zusätzlich als Antikoagulans durch Hemmung der Thromboplastinbildung.

Die Kombinationstherapie wurde nach folgendem Schema durchgeführt: 7 gr EACA i.v. praeoperativ, 250 000 E Trasylol in 1 000 ml Glucose in 24 Stunden; über 48 Stunden 7 gr EACA und 250 000 E Trasylol in 1 000 ml Glucose pro die. In den ersten drei postoperativen Tagen wurde die Blutung auf 1/3 bis 1/5 reduziert. Die Behandlungsdauer soll mindestens 24 Stunden betragen. Gegen Reaktivierung und Spätblutungen ist man mit einer dreitägigen Behandlung besser geschützt.

Komplikationen und Nebenwirkungen von EACA: Toxizität, Komplikationen und Nebenwirkungen konnten von keinem Autor auf Grund der Therapie mit EACA beobachtet werden. Nur SCHMUTZLER et al. (1966) weisen auf die Verstärkung von lokaler und allgemeiner Thrombosierung hin. Die Autoren beobachteten eine Beinvenenthrombose, Erbrechen, manchmal Durchfall und Neigung zu Hypotension nach EACA. Bei der Kombinationsbehandlung mit Trasylol traten aber auch bei SCHMUTZLER (1966) keine Nebenwirkungen auf.

Kontraindikationen:

Wegen der überwiegend renalen Ausscheidung ist die Niereninsuffizienz als Kontraindikation der EACA-Therapie anzusehen, da allenfalls ein nicht unerheblicher Kumulationseffekt auftreten kann (MARX 1966).

b) Hämaturie bei Koagulopathien

Die Beobachtung gehäufter Hämaturien bei Koagulo- und Thrombopathien läßt sich dadurch erklären, daß die Auflösung minderwertiger Gerinnsel durch die normale Menge Urokinase im Urogenitaltrakt gefördert wird. Diese Blutungen sind häufiger als andere resistent gegen die übliche Plasmabehandlung. Sie sollten mit EACA therapiert werden (SWEENEY 1965).

c) Essentielle Hämaturie-"Hyperurokinasurie"

Wahrscheinlich sind manche Fälle, die bisher als "essentielle Hämaturie" angesprochen wurden, durch eine vermehrte Urokinase-Ausscheidung bedingt.

ANDERSSON (1962) berichtet über zwei Patienten, bei denen weder Tumor, Konkrement, Infektion, Koagulopathie oder Erhöhung des renalen Druckes Anhalt für die Ursache der Blutungen in das Nierenbecken gaben. Bei dem 22jährigen Patienten mit rezidivierender Hämaturie aus dem rechten Ureter (Hgb 8, 2 gr%) war das rechte Pyelon dilatiert durch Urinstau und Gerinnsel, die rechte Niere funktionslos, der Urin steril. Nach Therapie mit EACA wurde der

Urin klar. Die rechte Niere gab nach Nephrektomie keinen makro- oder mikroskopischen Hinweis auf die Blutungsquelle. Der histologische Befund lautete auf Parenchymblutungen und entzündliche Veränderungen, an einigen Stellen Anhäufung amorpher Grundsubstanz. "Ähnliche Bilder werden oft bei Harnstau mit Reflux gefunden." Ein 32jähriger Patient mit linksseitiger Hämaturie bei unbekannter Ursache sprach prompt auf EACA (7 gr EACA 5 x pro die und 1 mg Gynergen 3 x pro die) an. Nach Absetzen der Therapie war der Urin bald wieder blutig verfärbt wie zuvor. Einen Monat später wurde eine sechswöchige Therapie mit EACA und Gynergen begonnen, die Gesamtdosis EACA betrug 1 100 gr und wurde gut vertragen. Nach 6 Tagen war der Urin klar und der Patient von da an symptomlos. Während der Behandlung zeigte der Urin keine fibrinolytische Aktivität; die Dialyse ergab aber, daß die Urokinase-Ausscheidung nicht abgenommen hatte.

Über zwei weitere Fälle mit essentieller Hämaturie berichten SUNDERMANN und VOGEL (1965). Es handelt sich um eine 51jährige Patientin, die seit dem 15. Lebensjahr an rezidivierenden Hämaturien leidet. Klinischer Befund und Laborbefunde waren normal, die Nierendiagnostik ergab: massenhaft Erythrozyten im Urin, Blutung aus dem rechten Ureterostium. Es wurde eine Nephrektomie rechts durchgeführt, die Niere war makro- und mikroskopisch ohne Befund. Nach 18 Monaten setzten Blutungen aus der linken Niere ein. Bei der zweiten Patientin wurde ebenfalls wegen unbeeinflußbarer Hämaturie bei normalen Befunden eine Nephrektomie durchgeführt. Als 11 Tage nach der Operation eine schwere Blutung aus dem kontralateralen Ostium einsetzte, wurde die fibrinolytische Aktivität des Urins bestimmt. Die Plasmalysezeit war auf ein Zehntel reduziert. Auf Behandlung mit p-Aminomethylbenzoesäure (PAMBA) - ein Antifibrinolytikum mit verstärkter Wirkung gegenüber EACA bei gleichem Wirkungsmechanismus - war nach sehr hoher Dosierung (1,5 gr oral pro die) keine Mikrohämaturie mehr nachweisbar. Später genügte eine Erhaltungsdosis von 250 mg PAMBA zweimal wöchentlich.

Die aufgeführten Fälle lassen sich durch eine Hyperkinasurie erklären. Offenbar handelt es sich dabei um ein lokales Geschehen, da die fibrinolytische Aktivität im venösen Blut nicht oder nur geringfügig gesteigert war. Diese Hämaturien lassen sich vergleichen mit gesteigerten funktionellen Hypermenorrhoen, bei denen sich nur im uterinen Blut eine erheblich gesteigerte fibrinolytische Aktivität nachweisen läßt. Die geringe Verlängerung von Heparintoleranzzeit und Thrombelastogramm-Reaktionszeit können eventuell auf die Wirkung von Antithrombin VI zurückgeführt werden. Es wäre inter-

essant in den angeführten Fällen die histologischen Veränderungen am juxtaglomerulären Apparat zu kennen bzw. nach der Methode von TODD (1964) die fibrinolytische Aktivität der Nieren zu untersuchen. Diese Befunde könnten die Theorie, daß Urokinase in der Niere gebildet wird, weiter klären.

Jedenfalls sollte bei Hämaturien ohne erkennbare Ursache die fibrinolytische Aktivität des Urins bestimmt werden, um eventuell eine hochdosierte Therapie mit EACA einzuleiten, ehe man sich zu einer Nephrektomie entschließt.

2. Entzündung des Harntrakts

Bei Entzündungen, Infektion, Urolithiasis des Harntrakts entstehen Fibringerinnsel, deren Plasminogen durch Urokinase aktiviert werden kann. Inwieweit dadurch die Heilung gestört wird, ist noch völlig ungeklärt. Weitere Untersuchungen müssen erweisen, ob durch Ausschaltung der Urokinase die Heilungstendenz signifikant beeinflußt werden kann.

XI. Urokinase im thrombolytischen System des Organismus

1. Derzeitige Vorstellung über die Thrombolyse

Urokinase kann ähnlich wie der natürlich vorhandene Blutaktivator eine fibrinolytische und thrombolytische Aktivität im strömenden Blut hervorrufen. Über den Ablauf der Thrombolyse bestehen zwei Hypothesen, die einander nicht völlig ausschließen (cfr. BRINKHAUS et al. 1961).

a) Hypothese der Aktivator-Thrombolyse:

Die Fähigkeit eines fibrinolytischen Systems, Fibrin abzubauen, wird nicht nur und nicht in erster Linie bestimmt durch seine proteolytische Aktivität auf Grund von nicht inhibiertem, also aktivem Plasmin, sondern vor allem durch den Gehalt an Plasminogen-Aktivator. FLETCHER, ALKJAERSIG und SHERRY stützen diese Hypothese auf die spezifische Adsorption des Plasminogens an Fibrin in statu nascendi.

Durch parenterale Gaben hoher Streptokinase-Dosen fällt die Plasminogen-Konzentration sofort ab bei rasch steigendem Plasmintiter. Es entsteht eine transiente Hyperplasminämie bis zur Inaktivierung des Plasmins durch Antiplasmin. Der Plasminogenverbrauch kann unter Umständen bis zum völligen Verschwinden des Plasminogens führen und damit die fibrinolytische Aktivität des Blutes aufhören. Wird durch eine ausreichende Erhaltungsdosis ein hoher zirkulierender Aktivatorspiegel erreicht, so wird trotz niedriger Plasminogen- und Plasminkonzentration die Thrombolyse weitergehen, wenn das Gerinnsel Plasminogen enthält. Deswegen wurden für eine erfolgreiche Thrombolyse folgende Kriterien gefordert:

1. Das Gerinnsel muß Plasminogen enthalten.
2. Das Gerinnsel muß einem Aktivator ausgesetzt sein.

Nach Adsorption und Diffusion des Aktivators in das Gerinnsel wird Plasminogen aktiviert und Plasmin kann - relativ geschützt vor Antiplasmin - direkt auf Fibrin wirken. Die Theorie nimmt an, daß das gesamte Antiplasmin im Gerinnsel und im umgebenden Plasma nicht ausreicht, das Plasmin zu neutralisieren, das durch Aktivierung des endogenen Gerinnsel-Plasminogen entstanden ist. Die Lyse durch exogenes Plasmin scheint wegen des Überschusses an Antiplasmin im strömenden Blut ziemlich unbedeutend zu sein (ALKJAER-

SIG et al. 1959 a; FLETCHER et al. 1959, 1962 a und b; SHERRY et al. 1959; SCHMUTZLER und KOLLER 1965).

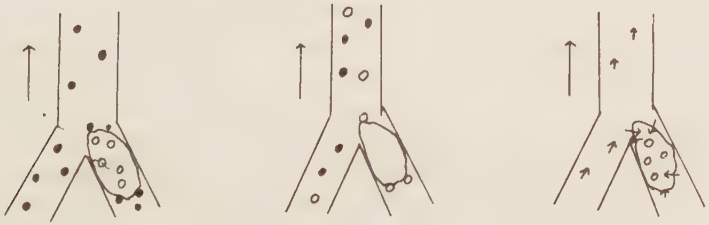
Für das Eindringungsvermögen in Gerinnsel - die embatische Potenz (MARX 1962 a) - sind die Konzentration an der Oberfläche, Molekülgröße und -struktur bedeutsam neben Depolymerisatoren und Denaturatoren des Fibrins als "Embaseadiuvantien" (MARX 1962 a; v. KAULLA 1963). Die Embasetendenz der einzelnen Fibrinolyseeffektoren ist noch wenig geklärt.

Die innere oder endogene Thrombolyse in vivo kommt durch Diffusion des Aktivators oder durch Einschluß des lytischen Prinzips in das Gerinnsel (z.B. bei Rethrombosierung während der lytischen Therapie) zustande. Eine exogene Lyse, durch Wirksamkeit der Protease von außen ("frontal") am Substrat, läuft viel langsamer ab und benötigt höhere Konzentrationen.

Ebenso unterscheidet man in vitro zwischen einer äußeren und einer inneren Lyse, bei der Aktivator und/oder Plasmin schon vor der Gerinnung zugesetzt wurden (FISCHBACHER 1960; GROSS et al. 1960; HAAN et al. 1965). MARX (1962 b) zeigte in Modellversuchen, daß auch von außen durch freies Plasmin eine gewisse Andauung eines Thrombus erfolgt. Aber in vivo wird der Effekt wahrscheinlich geringer sein als bei statischer Versuchsanordnung in vitro, weil die "Plasminclearance" in vivo durch Antiplasmine, Ausscheidung, Abbau usw. eine größere Rolle spielen soll.

Innere und äußere Lyse schematisch nach GROSS et al. (1960):

in vivo: Lyse von außen Lyse von innen (a) Lyse von innen (b)



in vitro	Plg-haltiges Fibrinogen + Thrombin überschichtet mit Plasmin	Plg-haltiges Fibrinogen + Plasmin + Thrombin	Plg-haltiges Fibrinogen + Thrombin überschichtet mit SK oder UK
	• Plasmin	o Plasminogen	↑ Aktivator

Bei der inneren Lysis in vitro kann man mit Hilfe des Thrombelastogramms charakteristische Unterschiede in der Wirkung von Plasmin und Urokinase feststellen (ASTRUP und EGEBLAD 1965). Die Lysis von Gerinnseln aus Rinderfibrinogen und Rinderthrombin in Gegenwart von präformiertem Plasmin beginnt sofort, die maximale Amplitude im TEG ist verringert, die beiden Kurven nähern sich allmählich. Das kann interpretiert werden durch Fibrinogenolyse (Antithrombinbildung) und Fibrinolyse, die sofort einsetzen kann. Ersetzt man Plasmin durch Urokinase unter gleichen Versuchsbedingungen, dann zeigt das TEG eine unveränderte maximale Amplitude im Vergleich zur Kontrolle, die Lysis setzt erst später ein und die beiden Kurven fallen steil ab.

Nach mikrophotographischen Aufnahmen im Dunkelfeld von FONIO (1961) ist durch äußere Lyse in vitro - d.h. Zusatz eines fibrinolytischen Präparates (Urokinase, Streptokinase, Plasminpräparate) nach Gerinnung und Retraktion des Gerinnsels - keine totale Lyse möglich, da die retrahierten, eng anschließenden Fibrillenstränge dem Eindringen fibrinolytischer Substanzen einen Widerstand entgegensetzen. Es ist aber hier wie allgemein zu berücksichtigen, daß die Resultate der Lyse in vitro nur mit Vorbehalt auf die Verhältnisse in vivo übertragen werden dürfen. Intravasal entstandene menschliche Thromben verfügen über eine definierbare histologische Struktur, durch die sie sich von retrahierten Gerinnseln in vitro grundsätzlich unterscheiden. In ein Maschenwerk aus Plättchenbalken mit angelagerten Fibrinlamellen sind zellige Bestandteile eingelagert, vorwiegend Erythrozyten in den roten Gerinnungsthromben, die Plättchen überwiegen in den weißen Abscheidungsthromben. Es ist eine dichte Kernzone von einer lockeren Randzone aus Fibrinlamellen zu differenzieren (LUDWIG 1964). Durch die Einflüsse von Kreislauf, Stoffwechsel, Gefäßwand und Blutzellen liegen die Verhältnisse in vivo günstiger. Den Blutzellen kommt nicht nur passive Bedeutung zu. Schon innerhalb der ersten 24 Stunden nach klinischer Manifestation der Thrombose beobachtete LUDWIG (1964) umschriebene Zellimmanationen. Die Leukozyten sollen aktiv in Thromben einwandern. Den neutrophilen Leukozyten wird eine lytische Spontanaktivität gegen-

über Fibrin zugeschrieben; wahrscheinlich besitzen sie Aktivitäten nach Art von Proaktivator, Plasmin und Lysokinase (BOCCARDI 1964; HENRY 1965), während Eosinophile, von Fibrin angelockt, noch zusätzlich Plasminogen importieren sollen, das sie in der Umgebung von Fibrinablagerungen abgeben (RIDDLE et al. 1965).

Von Bedeutung ist auch hier das Alter des Gerinnsels. In vivo - in Tierexperimenten und an Freiwilligen - konnte nur das Fibrin relativ frischer Thromben und Emboli durch thrombolytische Substanzen gelöst werden vor ihrer bindegewebigen Organisation (nach 3 bis 5 Tagen). Die Endothelschicht an der Thrombusoberfläche scheint das Fibrin vom Blutstrom zu trennen (BACK et al. 1958; GROSS et al. 1960). Die abnehmende Lysisbereitschaft soll weiterhin abhängig sein von der Erhaltung des adsorbierten Plasminogens an Thrombusfibrin. Die Plasminogen-Haltbarkeit erwies sich als relativ hoch (MARX 1962 b).

b) Hypothese der Plasmin-Thrombolyse:

Eine andere Theorie wird von AMBRUS und seinen Mitarbeitern vertreten. Plasmin und Antiplasmin sollen einen inaktiven Komplex bilden, der ein Reservoir fibrinolytischer Aktivität darstellt und die Gerinnungsfaktoren vor Proteolyse schützt. Der Plasmin - Antiplasmin - Komplex soll dissoziabel sein in der Gegenwart von Fibrin, das eine größere Affinität zu Plasmin besitzt als Antiplasmin. Plasmin kann so nach Dissoziation in der Nähe eines Fibringerinnsels wieder aktiv werden, d.h. Lyse bewirken. Das α_2 Antiplasmin (Sofortantiplasmin) und das stärker wirksame α_1 Antitrypsin (Progressivantiplasmin) werden für die reversible Bildung des Plasmin - Antiplasmin - Komplexes verantwortlich gemacht. Die Autoren belegen ihre Hypothese durch Versuche mit radioaktiv markierten Substanzen und durch immunohistochemische Studien (NORMAN 1958; AMBRUS et al. 1960 a und b; BACK et al. 1961, 1965).

Diese Interpretation blieb nicht unwidersprochen. SAWYER et al. (1961) glauben die Ergebnisse von AMBRUS durch den Aktivatorgehalt in den verwandten Plasminpräparaten erklären zu können. DUDOK DE WIT et al. (1962) halten es auf Grund ihrer Versuche an radioaktiv-markierten Gerinnseln für unmöglich, daß Plasmin jemals ein wirksames thrombolytisches Plasmin in Gegenwart von Plasma sein könne, da die fibrinolytische Wirkung des Plasmins durch die Gegenwart von Plasma außerordentlich gehemmt wurde.

2. Koagulationsdefekt als Folge gesteigerter fibrinolytischer Aktivität

Durch eine rasch ansteigende hohe Aktivatorkonzentration im strömenden Blut entsteht eine Hyperplasminämie, bei der wegen fehlenden Antiplasminschutzes neben Fibrin Fibrinogen und die Gerinnungsfaktoren V, VIII, in geringerem Ausmaß Faktor II proteolytisch gespalten werden. Der Abfall dieser Faktoren wurde in vivo nach allen getesteten thrombolytischen Substanzen beobachtet: Streptokinase, Streptokinase-Plasmin, Urokinase und Urokinase-Plasmin (v. KAULLA 1963). Es resultiert ein Gerinnungsdefekt, der eine hämorrhagische Diathese nach sich ziehen kann (SAWYER et al. 1961). Aus dem Fibrin- und Fibrinogenabbau entstehen gerinnungshemmende Spaltprodukte, die NIEWIAROWSKI und KOWALSKI (1958) unter dem Begriff Antithrombin VI zusammenfaßten.

Neuere Untersuchungen zeigten, daß durch die Fibrinolyse neben Fibrinolysopeptiden Metafibrin - ein Spaltprodukt mit großem Molekulargewicht - entsteht. ALKJAERSIG et al. (1962) isolierten und untersuchten eines dieser Fragmente. Es stellte sich heraus, daß Metafibrin einen Hemmstoff für die normale Fibrinpolymerisation darstellt, da dies Fragment rückläufig wieder in Fibrinpolymer eingebaut wird, aber die Ausbildung der normalen Fibrinstruktur nunmehr verhindert. Die Thrombinwirkung soll durch das Fragment nicht gehemmt werden. Der Gerinnungsdefekt durch Hyperplasminämie soll in der Hauptsache durch die Fibrinpolymerisationsstörung bedingt sein, während das Absinken von Faktor V und VIII relativ unbedeutend ist. LATALLO et al. (1963) gaben folgende Synthese der verschiedenen Vorstellungen: Die enzymatischen Spaltprodukte von Fibrin und Fibrinogen wirken in vitro und in vivo in einer Frühreaktion als Antithrombin VI mit Verlängerung der Thrombinzeit und in einer Spätreaktion als Polymerisationshemmer ohne wesentlichen Einfluß auf die Thrombinzeit. Beide Reaktionen erscheinen somit als wichtige Faktoren zur Vermeidung einer Rethrombosierung. Es entsteht eine Art "Antikoagulansämie", die je nach Clearancepotenz des Organismus viele Stunden andauern kann (MARX 1965 b).

3. Thrombolyse durch Aktivierung des fibrinolytischen Systems mit Urokinase

Adsorption und thrombembatische Potenz

Wird dem strömenden Blut exogen Urokinase zugeführt, so entsteht durch Plasminogen-Aktivierung fibrinolytische Aktivität. Der Abbau eines Thrombus hängt wesentlich ab von der Adsorption bzw. Diffusion des Aktivators in den

Thrombus. Im Idealfall würde ein Decoagulans selektiv am Fibrin adsorbiert, so daß eine Thrombolyse ohne bedeutende fibrinolytische Aktivität im strömenden Blut entsteht.

Schon die Versuche von ALKJAERSIG et al. (1959 a) kann man interpretieren im Sinne einer thrombembatischen Potenz der Urokinase. Radioaktiv markierte Gerinnsel unterschiedlichen Plasminogengehalts zeigten sich sensibel gegenüber Urokinase, relativ unempfindlich gegen Plasmin. Kommt ein Plasma-Gerinnsel 5 Minuten mit einer Urokinase-Lösung in Kontakt, so wird nach Ersatz der Urokinase durch Kochsalzlösung eine progressive Fibrinolyse ausgelöst (v. KAULLA 1959). Die Urokinase muß in das Gerinnsel diffundieren, um Plasminogen zu aktivieren. MARX (1962 a) betont die Bedeutung der Molekülgröße und -struktur für die Embasetendenz. Das Eindringungsvermögen der Streptokinase mit einem Molekulargewicht im Bereich von 45 000 (MARX 1962 a) wurde durch radioaktive Markierung von GROSS et al. (1960) und LUDWIG (1964; zit. nach MARX 1965 a) bewiesen. Das Molekulargewicht der Urokinase liegt mit 53 000 (LESUK 1965) nur wenig über dem der Streptokinase und bedeutend unter dem des Plasmins.

Eine lokale Konzentration der Urokinase am Gerinnsel in vitro wird von BLIX (1962 a und b) bestritten. Während der Koagulation soll der spontane Aktivator und der Streptokinase-Proaktivator-Komplex in großem Ausmaß an Fibrin adsorbiert werden, nicht aber Urokinase. Gereinigte Fibringerinnsel werden zwar lysiert, wenn sie nach Kontakt mit Urokinase für 10 Minuten oder einer Stunde gewaschen und in gepufferte Salzlösung gebracht werden, aber im gleichartigen Versuch mit Plasma-Gerinnseln scheine die Diffusion der Aktivatoren und ihre Adsorption an der Oberfläche keine Bedeutung zu haben, da die Lyse in Aktivator-freiem Plasma nicht anhalte.

Bei den Versuchen von FONIO (1960) zeigte Urokinase in vitro nur dann lytische Potenz, wenn sie vor oder während Recalzifizierung und Retraktion des Gerinnsels zugegeben wurde. Der Autor schließt daraus, daß auch in vivo präformierte Thromben gegenüber Urokinase-Infusionen resistent sind und nur sekundär Thrombosierung in statu nascendi rasch abgebaut werden.

Diese Ergebnisse scheinen von BACK et al. (1961, 1965) bestätigt zu werden. Nach radioaktiver Markierung fibrinolytischer Substanzen sollen Urokinase und Streptokinase allein in vivo überhaupt keine Affinität zum Gerinnsel aufweisen und keine Lyse bewirken, während Humanplasmin - aktiviert durch Urokinase, Streptokinase oder spontan - und Plasminogen gut an der

Oberfläche adsorbiert werden und in die Gerinnsel diffundieren. Mit einer Immunfluoreszenz-Methode resultierte das gleiche Ergebnis, so daß die Kritik, daß fibrinolytische Komponenten durch Markierung mit radioaktivem Jod verändert werden, hinfällig sein soll. Aber wie immer man auch diese Ergebnisse interpretieren mag, zweifellos hat Urokinase die Fähigkeit, in vitro und in vivo Gerinnsel aufzulösen. SAWYER et al. (1960) zeigten, daß isotopisch markierte Urokinase im Gegensatz zu Streptokinase in niedrigen Konzentrationen sogar das Plasminogen des Thrombus bevorzugt aktiviert wie der Plasma-Aktivator ohne Umwandlung des Plasma-Plasminogens.

4. Plasma-Inhibitoren der Urokinase-Aktivität

In vitro wird die fibrinolytische Aktivität der Urokinase durch Zusatz von Plasma gehemmt (DUDOK DE WIT et al. 1962). VRAKMAN und ASTRUP (1963) stellten fest, daß während der Gravidität die selektive Hemmung auf Urokinase-induzierte Fibrinolyse signifikant ansteigt. Die Autoren konnten nicht ermitteln, ob der Inhibitor selektiv auf Urokinase wirkt oder ob Urokinase ihm gegenüber nur besonders empfindlich ist. Der Hemmstoff war nicht mit Trypsininhibitor identisch und beeinflußte Streptokinase nicht.

Eine Charakterisierung eines Urokinase-Inhibitors gab erstmals JOHNSON (1960). Der Autor vergleicht ihn mit dem Inhibitor von Streptokinase: beide befinden sich danach vorzugsweise in der α-Globulinfraktion des Humanserums. Es scheint sich nach der Meinung des Autors nicht um enzymatische Proteine zu handeln, da sie nicht dialysierbar sind, durch Trypsin und Pepsin zerstört werden, schnell reagieren und ziemlich temperaturunabhängig sind. Sie sind labil bei 40°C und werden schnell durch organische Lösungsmittel zerstört. Urokinase wurde in vitro nicht durch den Streptokinase-Inhibitor beeinflußt. Der Urokinase-Inhibitor unterscheide sich vom Streptokinase-Inhibitor in seiner pH-Stabilität. Seine Konzentration wird durch Streptokinase-Injektion nicht verändert. Durch Behandlung des Serums mit Betonit konnte OLESEN (1963) die Aktivität des Inhibitors reduzieren.

NILSSON et al. (1961) beschreiben einen Patienten, mit ungewöhnlich hohem Inhibitorspiegel gegen Plasminogen-Aktivierung durch Urokinase und Streptokinase mit progressiven Syndromen massiver Thrombosen im Venensystem seit der Kindheit, Nekrosen im Knochenmark und Skelet. Der Fibrinogenspiegel lag sehr hoch. Die Hemmwirkung gegen Plasminogen-Aktivierung durch Urokinase war 5 bis 10mal stärker als in normalem Serum. Die Autoren konnten Inhibitoren von Urokinase und Streptokinase in COHNS Fraktion IV_1 und IV_4 anrei-

chern. Der Urokinase-Inhibitor war bei Zimmertemperatur nur für zwei Stunden stabil; jede Abweichung des pH-Wertes zum sauren oder basischen Milieu sowie Hämolyse verminderte die Inhibitor-Aktivität des Serums. Durch Erhitzen auf 56°C für 30 Minuten wurden die Inhibitoren im Plasma zerstört. Die Hemmstoffe des Patienten unterschieden sich nur quantitativ von denen in normalen Seren.

Mit der Methode von NILSSON et al. (1961 b) untersuchte GORMSEN (1962) an 75 gesunden Personen und an 211 Patienten mit verschiedenen Krankheiten das Serum auf Komponenten, die die Plasminogen-Aktivierung durch Urokinase hemmen. Es fand sich keine Abhängigkeit von Alter, Geschlecht oder Lipämie. Der Inhibitorgehalt des Serums war vermehrt in einigen akuten thrombotischen Fällen, oft bei malignen Neoplasien, bei Diabetikern (schon bevor Gefäßkomplikationen nachweisbar waren). Bei Atherosklerose fand sich keine Konzentrationsvermehrung, bei akutem Herzinfarkt schwankte die Konzentration zwischen deutlicher Vermehrung und Abnahme. In den meisten Fällen mit hepatischer Zirrhose war der Inhibitorgehalt niedrig. DUDOK DE WIT (1964) fand, daß der Anstieg von Antiplasmin mit dem Anstieg von Anti-Urokinase gekoppelt war und vermutet, daß es sich nicht um getrennte Inhibitoren handelt. Nach seinen Erfahrungen müssen etwa 10 PLOUG Einheiten Urokinase pro ml Plasma zugefügt werden, um durch Überspielung der Inhibitoren eine hohe fibrinolytische Aktivität zu erhalten.

Die Herkunft dieser Inhibitoren, ihr Verhältnis zu den Antiplasminen und den Inhibitoren des Spontanaktivators sind noch völlig unbekannt. Sie sollen die physiologische spontane Fibrinolyse kontrollieren, aber bei pathologisch auftretenden Spontanfibrinolysen völlig unzureichend sein (JOHNSON 1960).

Für die Therapie ist jedenfalls die geringe Variationsbreite des Antiurokinasespiegels von großer Bedeutung. Normalerweise soll der Gehalt im Plasma nur bis zum zweifachen von Individuum zu Individuum differieren (JOHNSON 1964).

Literatur zur Bestimmung der Urokinase-Inhibitoren: NILSSON et al. (1961 a); PARASKEVAS et al. (1962); BLIX et al. (1964 a); MERSKEY et al. (1964); MORIAU et al. (1964).

5. Einfluß der Blutzellen auf Urokinase

a) Erythrozyten

Erythrozyten können Urokinase adsorbieren und dadurch vor Plasma-Inhibitoren schützen. In Gegenwart von Inhibitoren entfaltet adsorbierte Urokinase eine größere Aktivität als das freie Ferment. Die adsorbierte Menge ist der Urokinase-Konzentration direkt, der Temperatur indirekt proportional. Die fibrinolytische Aktivität nimmt in der Flüssigkeit gewaschener Erythrozyten zu. Außerdem sollen die Erythrozyten auch Inhibitoren der Urokinase adsorbieren (KOLMEN et al. 1959).

KOTSCHY et al. (1964) bestreiten die Adsorption. Die Autoren fanden, daß hämolysierte Erythrozyten und gereinigte Hämolysate die Fibrinolyse durch Urokinase hemmen. Erythrozytensuspensionen ohne Hämolyse sollen überhaupt keine Wirkung ausüben.

b) Leukozyten

Über den fördernden Einfluß der Leukozyten auf den Fibrinabbau im allgemeinen wurde schon berichtet (HENRY 1965). Nur SINAKOS und LARRIEU (1965) teilten bisher speziell etwas über die Wirkung auf Urokinase mit. Neben einer proteolytischen Aktivität an nicht erhitzten und an erhitzten Fibrinplatten und Proaktivator-Aktivität fanden die Autoren nach Zentrifugation einen Inhibitor der Plasminogen-Aktivierung durch Urokinase im Überstand des Lysates. Ein Antiplasmin blieb am Stroma gebunden.

c) Thrombozyten

Urokinase lysiert wie Plasmin Gerinnsel aus Plasma mit einem Gehalt unter 250 000 Plättchen bedeutend schneller als Gerinnsel aus Plasma mit mehr als 500 000 Thrombozyten (v. KAULLA 1963). Hierbei spielt die Retraktion keine Rolle. MARX konnte schon 1952 (Habilitationsschrift 1953) nachweisen, daß Thrombozyten eine Substanz enthalten müssen, die die Fibrinolyse hemmen; ebenso JOHNSON und SCHNEIDER 1953. Thrombozyten aus fibrinolytisch aktivem Blut beschleunigen dagegen die Gesamtfibrinolysezeit; zu diesem Ergebnis kam BIERSTEDT (1957), der allerdings mit Leichenblut arbeitete, in dem Fibrinolyseaktivatoren frei werden, die letztlich die Wiederauflösung des zuerst post mortem gerinnenden Blutes bewirken. ("Leichenstarre des Blutes").

Es wird angenommen, daß das Plättchen-Antiplasmin zu den endogenen Thrombozytenfaktoren gehört, während Plasmin nach längerem Kontakt mit fibrinolytisch aktivem Plasma adsorbiert wird. Wenn auch einige Autoren einen Einfluß auf die Fibrinolyse durch Plättchen verneinen (BLIX 1962 b; DUDOK DE WIT 1964), so darf man doch wohl nach den eingehenden Untersuchungen von MARX (1953) und HOLEMANS und GROSS (1961 a und b) annehmen, daß die humanen Thrombozyten eine hemmende Aktivität auf Plasmin und Urokinase ausüben. Diese Aktivität kann durch den bedeutenden Proaktivatorgehalt der Plättchen bei der Testung von Streptokinase und nicht erhitzten menschlichen Thrombozyten an der Rinderfibrinplatte völlig überdeckt werden. Der Proaktivator von Streptokinase ist thermolabil, wahrscheinlich vom Plasma adsorbiert und fehlt Rinder-Plättchen. Die Hemmung der Lyse durch Urokinase ist proportional der Konzentration humaner oder boviner Thrombozyten. Ob die Antiurokinase-Aktivität der Plättchen auf der Hemmung der Plasminogen-Aktivierung beruht oder auf der Antiplasmin-Wirkung konnte nicht mit Sicherheit festgestellt werden; wahrscheinlich überwiegt die letztere. Zu demselben Ergebnis kamen auch GROSS et al. (1962). Andere Autoren betonen lediglich die fördernde Wirkung auf die Fibrinolyse durch Abgabe von Proaktivator und Aktivator (REID und SILVER 1964; LARRIEU 1965).

In Anbetracht der vielen ungelösten Probleme wird man zur Zeit sagen können, daß die intravasale Thrombolyse u.a. abhängig ist von freiwerdenden Aktivatoren und Inhibitoren aus Zellbestandteilen des Thrombus, von der Art des Thrombus (Abscheidungs-, Gerinnungsthrombus), von seiner Fähigkeit, Zellen - vorwiegend Thrombozyten - einzulagern.

6. Plasmaclearance der Urokinase

BACK et al. (1961) studierten Verteilung, Metabolisierung und Ausscheidung radioaktiv markierter Urokinase nach intravenöser Applikation am Hund. Die Plasmaclearance-Kurve von J^{131}-Urokinase wies in diesen Versuchen zwei Prozesse auf:

1. Durch einen schnellen Prozeß mit einer Halbwertzeit von 5 Minuten wurden 84, 5% der Radioaktivität entfernt.
2. Durch einen langsamen Prozeß mit einer Halbwertzeit von mehr als 4 Stunden wurden die übrigen 15, 5% der radioaktiv markierten Urokinase entfernt.

Die Plasmaclearance-Kurve für Plasminogen und Plasmin hatte ungefähr den gleichen Verlauf, während J^{131}-Streptokinase eine längere Halbwertzeit zeigte. Die Autoren versuchen die Plasmaclearance durch metabolischen Abbau in Niere und Leber zu interpretieren, daneben kommen für den schnellen Prozeß noch die Entfernung denaturierter Proteine und jodierter Verunreinigungen durch Filtration vom Gefäß mit teilweiser Aufnahme in das reticulohistiozytäre System in Betracht. Der langsame Prozeß kann die Verteilung des Materials zwischen den intra- und extravasculären Räumen darstellen. Als Hauptausscheidungswege kommen die Niere (18, 8% der gesamten J^{131}-Urokinase in 4 Stunden) und die Galle (1, 1%) in Frage.

FLETCHER et al. (1965) sind der Meinung, daß die Urokinase durch einen ähnlichen Mechanismus vom Plasma entfernt, zerstört und ausgeschieden wird wie der natürliche Plasma-Aktivator. Für die 50% Plasmaclearancezeit in vivo am Menschen berechneten diese Autoren mit Hilfe radioaktiv markierter Gerinnsel, der Euglobulinlysiszeit und der Fibrinplatte für hochgereinigte Urokinase-Präparate 14 $\pm$ 6 Minuten; für den Plasminogen-Aktivator, der bei gesunden Personen nach Stimulation durch Nicotinsäure entsteht, einen ähnlichen Wert mit 12, 7 $\pm$ 5,4 Minuten. Obwohl der Abbau der halben Urokinase-Menge in vitro mit 48,5 $\pm$ 21 Minuten schneller verläuft als der des Plasminogen-Aktivators mit 79 $\pm$ 24 Minuten, läßt sich daraus kein signifikanter Unterschied errechnen, da die Abbaugeschwindigkeit mit verschiedenen Plasmaproben in vitro sehr stark variiert.

7. Einfluß synthetischer Verbindungen auf die Urokinase-Aktivität

v. KAULLA (1963) untersuchte eine große Anzahl synthetischer Verbindungen auf ihre fibrinolytische Wirksamkeit in vivo. Dabei stellte er fest, daß die Urokinase-Aktivität durch verschiedene Harnstoffverbindungen beträchtlich vermehrt werden kann. Aethylurethan erwies sich als aktivste Verbindung dieser Gruppe. Der Wirkungsmechanismus dieser nicht enzymatischen Substanz ist unbekannt. Eine mögliche Erklärung liegt in der Wirkung als embatische Adiuvantien durch Denaturierung und Depolymerisation des Humanfibrins. Da die synthetischen Substanzen nur in Gegenwart von Humanplasma wirken, ist auch mit der Zerstörung oder Bindung von Antiplasmin zu rechnen. Möglicherweise läßt sich die therapeutische Wirkung von Urokinase durch Kombination mit synthetischen Verbindungen vorteilhaft verstärken.

XII. Tierexperimentelle Thrombolyse durch Urokinase

Die Zahl der Tierexperimente, in denen versucht wird, künstlich erzeugte intravasale Thromben durch Urokinase oder Urokinase-aktiviertes Plasminogen zu lysieren, ist noch verhältnismäßig gering. Sie zeigen klar, daß Urokinase tatsächlich bei entsprechender Dosierung in vivo thrombolytische Aktivität hat.

Prinzipiell ist zu den Tierexperimenten zu bemerken, daß die künstlich erzeugten Thromben, besonders wenn sie ohne Verletzung der Gefäßwand durch gerinnungsfördernde Substanzen entstanden, sich erheblich von den spontan gebildeten Thromben des Menschen unterscheiden. Außerdem differiert das fibrinolytische System von einer Spezies zur anderen oft wesentlich; bekanntlich läßt sich durch Streptokinase nur bei wenigen Tieren eine fibrinolytische Aktivität herstellen, da das Proaktivatorensystem in hohem Maße artspezifisch ist, während andere bakterielle Kinasen beim Menschen wirkungslos bleiben und im Blut verschiedener Tiere Fibrinolyse erzeugen (Literatur bei STAMM 1962).

Die thrombolytischen Versuche werden vorwiegend an Hunden ausgeführt. Die Urokinase des Menschen aktiviert das Plasminogen des Hundes bedeutend besser als Humanplasminogen (MOHLER et al. 1958). Die Plasminkonzentration des Hundes beträgt etwa nur ein Zehntel der beim Menschen nachweisbaren Menge. Das bedeutet jedoch nicht, daß die fibrinolytische Aktivität geringer ist, da es wesentlich auf das Verhältnis von Plasmin : Antiplasmin und auf die Aktivatormenge ankommt.

Nach NIEWIAROWSKI et al. (1959) lassen sich die Tierspezies in bezug auf das fibrinolytische System in vier Gruppen teilen:

1. Spontanlyse des Euglobulins (Meerschweinchen)
2. Euglobulinlyse durch Zugabe von Streptokinase (Mensch, Affe, Hund, Katze)
3. Euglobulinlyse durch Zugabe von Streptokinase und Human-Plasminogen bzw. des damit verbundenen Proaktivators (Pferd, Rind, Schwein, Ratte, Maus)
4. Keine Lyse der Euglobulinfraktion trotz Zugabe von Streptokinase und Human-Plasminogen (Huhn, Ente, Frosch, Fisch).

TSAPOGAS und FLUTE (1964) verglichen die Thrombolyse durch humane Urokinase (LEO-Werke, Dänemark) bei 21 Hunden mit der durch Streptokinase an 17 Hunden.

Zur Thrombenerzeugung wurden die Femoralarterien frei präpariert und in ein isoliertes Segment von 5 cm Länge 0,3 ml frisches Kaninchenserum injiziert. Zwei Tage später wurde die Thrombolyse entweder lokal durch arterielle Infusion oder durch Infusion in die vena femoralis herbeigeführt. Inspektion, Palpation und in den meisten Fällen auch Arteriographie kontrollierten die Lysiserfolge. Die infundierten Aktivatormengen wurden berechnet nach der kritischen Aktivatorkonzentration; das ist die Menge, die ein Gerinnsel aus je 0,1 ml Thrombin, Aktivator und Plasma in einer Zeit von 1 bis 30 Minuten auflöst. Multipliziert mit dem Plasmavolumen des Hundes in ml ergab sich aus der kritischen Aktivatorkonzentration die kritische Aktivatordosis.

Die kritische Konzentration (Aktivatoreinheiten pro ml Plasma) zeigte bei Streptokinase große individuelle Schwankungen (im Verhältnis von 1 : 41); in bezug auf Urokinase waren sie bedeutend geringer (1 : 3).

1. Lokale Thrombolytische Aktivität

Infusionen mit der kritischen Konzentration des Aktivators in die verschlossene Arterie führten am Thrombus zu lytischen Reaktionen. Bei den fünf mit Urokinase behandelten Tieren wurde der Thrombus von vier Hunden vollständig aufgelöst. Mit Streptokinase wurden zwölf Hunde behandelt, fünf Thromben wurden vollständig, fünf partiell, zwei nicht lysiert. An der kontralateralen Extremität reichte durch die Verdünnung des Aktivators im Kreislauf in keinem Fall die Konzentration aus, um eine Thrombolyse zu bewirken. An Komplikationen traten bei einem Hund nach Urokinase eine stärkere Blutung aus Wunden auf, kleine lokale Hämatome bei einigen Hunden nach Streptokinase.

2. Systematisierte thrombolytische Aktivität

Durch Infusion der kritischen Aktivatordosis in einer Stunde wurde eine systematisierte thrombolytische Aktivität hervorgerufen. Gab man diese Dosis über einen längeren Zeitraum, entstand keine fibrinolytische Aktivität, da der Aktivator schnell aus dem strömenden Blut verschwindet. Die fibrinolytische Aktivität, die durch die kritische Urokinase-Dosis hervorgerufen wird, konnte durch eine kontinuierliche Infusion der halben Dosis pro Stunde aufrechterhalten werden.

Durch die kritische Urokinase-Dosis fiel die Plasminogen- und Fibrinogenkonzentration z.T. erheblich ab, die Thrombinzeit stieg leicht an auf Grund der Fibrinogen-Abbauprodukte und der Aktivatorgehalt des Urins war beträchtlich vermehrt. Die systematisierte thrombolytische Aktivität mußte wenigstens für acht Stunden aufrechterhalten werden, um die 5 cm langen Thromben zu lösen.

Durch Injektion der kritischen Dosis in 10 Minuten mit anschließender Infusion der halben oder ganzen kritischen Dosis pro Stunde über drei Stunden konnten in jedem Fall die Thromben beider Beine innerhalb von zwei Stunden vollständig lysiert werden.

Die Nebenwirkungen waren bei systematisierter fibrinolytischer Aktivität bedeutend größer. Von 12 Hunden zeigten 7 schwere Blutungen aus den Wunden und Hämaturie. 4 Hunde wiesen verzögerte Wundheilung auf, die aber auf lokale Infektion zurückgeführt werden kann. Durch EACA (1 gr pro kg Körpergewicht) konnten die Blutungen vermieden werden, nicht aber der Abfall des Plasminogen- und Fibrinogenspiegels. Das geschah überraschenderweise durch Heparin, so daß eine gleichzeitige Antikoagulantientherapie beim Hund angebracht zu sein scheint.

Infusionsfolgen: Die kritische Aktivator-Konzentration der Urokinase änderte sich weder nach Urokinase- noch nach Streptokinase-Infusion. Es trat also kein spezifischer neuer Inhibitor der Urokinase auf, so daß eine neue Infusion ohne neue Bestimmung der Initialdosis vorgenommen werden könnte. Rethrombosierung an der Stelle der früheren Okklusion traten an je drei der 21 mit Urokinase und der 17 mit Streptokinase behandelten Hunde auf.

1957 injizierten GUEST und CELANDER (1961) relativ gereinigte Urokinase-Präparate mehreren Hunden: 5 000 PLOUG-Einheiten pro kg Körpergewicht in 10 Minuten. Die fibrinolytische Aktivität des Plasmas stieg rasch für 90 Minuten um etwa 30% an und fiel nach 24 Stunden 20% unter den Präinjektionswert. Der Fibrinogenspiegel fiel 30 Minuten nach der Injektion um 22% und stieg nach 24 Stunden um 50% des Ausgangswertes. Der Plasminogentiter fiel schnell ab auf 60% nach 90 Minuten und lag 24 Stunden bei 50% des Ausgangswertes. Der Proaktivatorspiegel fiel auch zunächst rasch ab, aber nach 24 Stunden übertraf er um 90% den Präinjektionswert. Der Antiplasminspiegel nahm langsam ab bis zu 20% nach 24 Stunden. Bei Erhöhung der Urokinase-Dosierung bis auf 17 050 PLOUG-Einheiten pro kg ergaben sich ähnliche Werte. Es bestand keine Korrelation zwischen der injizierten Urokinase-Menge und dem Ausmaß der Plasmaveränderungen.

BACK et al. (1961) untersuchten die Verteilung, Metabolisierung und Ausscheidung intravenös applizierter radioaktiv markierter Komponenten des fibrinolytischen Systems an Hunden mit nicht markierten Thromben in der vena femoralis und vena jugularis. Plasmin wurde bei allen Hunden in hohem Grad spezifisch an die Gerinnsel adsorbiert, etwa hundertmal stärker als markierte Urokinase (LEO-Präparat) oder markierte Streptokinase. Spontan aktiviertes Plasmin zeigte eine geringere Adsorption an Fibrin und war klinisch weniger wirksam als Urokinase- oder Streptokinase-aktiviertes Plasmin. Auch ohne freie fibrinolytische Aktivität im Blut trat Decoagulation auf. Gerinnsel plasminbehandelter Tiere, in physiologischer Kochsalzlösung inkubiert, waren nach 24 Stunden alle wenigstens zu 50% lysiert. Radioaktiv markierte Urokinase und Streptokinase verhielten sich ungefähr gleich, sie wurden nur minimal an Fibrin adsorbiert und konnten in keinem Fall eine Lysis hervorrufen.

Durch immunhistochemische Methoden kommen die Autoren BACK et al. (1965) zu einem identischen Ergebnis. Die Ergebnisse dieser Autoren sind schwer zu interpretieren. Auf Grund ihrer Experimente und der Hypothese des reversiblen Plasmin - Antiplasmin - Komplexes verwenden sie selber nur Plasminpräparate, die vorwiegend mit Urokinase oder Streptokinase aktiviert wurden und berichten damit über erfolgreiche Lysen.

HUME (1961) erzeugte Gerinnsel aus Hundeblut, dem Humanplasminogen und radioaktiv markiertes Rinderfibrinogen zugefügt worden war. Diese Gerinnsel wurden über die vena cava als Pulmonalembolus in Hunde eingebracht bzw. in vitro getestet. Artefakte durch die radioaktive Markierung konnten nicht nachgewiesen werden.

Durch Urokinase aktiviertes Plasmin (200 PLOUG-Einheiten pro mg Plasminogen) in Einzelinjektionen oder als kontinuierliche Infusion wurde eine partielle Lyse erreicht. Eine totale Lyse konnte auch nicht durch Streptokinase oder andere Plasminpräparate herbeigeführt werden.

ROSCHLAU und PAINTER (1962) versuchten, arterielle Thromben in Hunden durch Humanplasmin, das durch Urokinase oder spontan aktiviert worden war, zu lysieren. Die Plasminogenaktivierung wurde in einer 50%igen Glyzerinlösung ausgeführt, um Plasmin zu stabilisieren. Das Urokinase-Plasmin enthielt 1,3 PLOUG-Einheiten, resp. 6,6 PLOUG-Einheiten, Urokinase pro mg Protein.

Die Gerinnsel wurden durch Trauma der Intima der art. femoralis mit einer Nadel in einem Segment von 2 cm Länge erzeugt ohne Einbringung fremden

Materials. Nach Entfernung der Ligaturen 24 Stunden später blieb der Thrombus in seiner Position, verschloß das Lumen vollkommen und nahm proximal und distal an Größe zu. Dieser Thrombus scheint dem Gerinnsel bei thrombo-embolischen Erkrankungen nahe zu kommen.

Die Lyse des arteriellen Gerinnsels wurde kontrolliert durch Aufzeichnung von Pulsation und Blutdruck distal vom Thrombus und durch Autopsie einige Tage nach der Behandlung.

24 Stunden nach Produktion des experimentellen Thrombus wurde mit der Plasmintherapie begonnen durch eine einzelne Injektion von 3250 PLOUG-Einheiten Plasmin pro kg Körpergewicht in 6 bis 8 Minuten. Die Initialdosis war bei allen Hunden gleich groß. Es wurde anschließend die fibrinolytische Aktivität des Blutes bestimmt und - wenn nötig - durch Injektion kleiner Plasminmengen in den folgenden Stunden die fibrinolytische Aktivität auf einem konstanten Niveau gehalten. Ohne zusätzliche Plasmininjektion soll die Aktivität mehrere Stunden erhöht geblieben sein. Bei den fünf Hunden, die mit Urokinase-aktiviertem Plasmin behandelt wurden, traten die ersten Pulsationen distal vom Thrombus nach 2,5 bis 4 Stunden auf. Bei einem Hund wurde eine Rethrombosierung beobachtet. Nur bei diesem Tier konnte autoptisch ein Thrombus nachgewiesen werden. An Nebenwirkungen traten bei einem Hund mäßiger Blutdruckabfall für zwei Stunden ein. Die Gerinnungszeit wurde leicht verkürzt. Einmal wurde eine Incoagulabilität für 6 Stunden beobachtet. Bei einem Tier konnte eine Leberschädigung von geringem Ausmaß registriert werden. Fibrinogen- und Plasminspiegel des Blutes wurden nicht bestimmt. Der Nachteil der Einzelinjektionen gegenüber der fortlaufenden Infusion des Thrombolytikums lag vor allem in der Gefahr der Überdosierung. Wenn man die große Menge an Aktivator im Urokinase-aktivierten Plasmin in Betracht zieht, war dieses dem spontan aktivierten Plasmin nur wenig überlegen.

Drei Hunden wurde nur Urokinase gegeben. Um eine Thrombolyse zu erreichen, waren so hohe Dosen Urokinase notwendig, daß weitere Versuche nicht durchgeführt wurden. Ein Hund erhielt 27 000 PLOUG-Einheiten Urokinase pro kg in einer Infusion über 9 Stunden, die fibrinolytische Aktivität stieg nach drei Stunden an. Erst am 6. Tag nach der Behandlung war das Gefäß vollständig geöffnet. Es traten keine toxischen oder sonstigen Nebenwirkungen auf.

Mit einem Plasminpräparat, das durch einen Überschuß an Urokinase akti-

viert worden war (750 PLOUG-Einheiten pro ml Plasminogen-Glycerin-Gemisch), wurde durch die halbe Urokinase-Menge (12 000 PLOUG-Einheiten pro kg Körpergewicht) eine Lyse von gleicher Intensität erzielt.

Die Autoren halten reine Urokinase-Präparate wegen der unökonomisch großen Dosen trotz guter Erfolge nicht für ein Thrombolytikum, das Aussicht hat, in die thrombolytische Therapie eingeführt zu werden. Man kann zu den Experimenten bemerken, daß die Ergebnisse nicht ohne weiteres auf die Therapie am Menschen übertragen werden können. Es wurden keine Bestimmungen der Antiplasmine durchgeführt. Falls nicht ein großer Überschuß wie beim Menschen vorliegt, wäre dadurch der gute Erfolg mit Plasminpräparaten zu erklären. Andererseits könnte der Inhibitorgehalt im Hundeplasma auch größer sein als im Humanplasma. Die Autoren bestimmten die notwendige individuelle Dosis des Thrombolytikums vor der Injektion nicht. Die benötigte fibrinolytische Aktivität war gleich groß bei allen Hunden. Einzelinjektionen dürften wegen der schlechteren Steuerbarkeit der Thrombolyse beim Menschen nicht in Frage kommen. Außerdem wurde auch von TSAPOGAS und FLUTE (1964) ein rasches Verschwinden der thrombolytischen Aktivität beobachtet. Eventuell entstehen durch die schnelle Injektion vermehrt Fibrinogen-Abbauprodukte durch Hyperplasminämie, die zu Blutungskomplikationen führen, die von den Autoren berichtet werden. Entsprechende Blutuntersuchungen wurden aber nicht durchgeführt.

Über eine lokale Anwendung der Urokinase (LEO-Präparat) an Kaninchen berichten HÖRVEN und OPSAHL (1964). In vitro ließen sich Plasmagerinnsel des Kaninchens nicht so gut durch humane Urokinase lysieren wie menschliche Plasmagerinnsel unter gleichen Versuchsbedingungen. Injektion von 0,1 ml Urokinase (10 000 PLOUG-Einheiten pro ml) in ein normales Kaninchenauge führte nach einer Stunde zu leichter Injektion des Ciliarkörpers und feinen sekundären Fibrinpräzipaten in der vorderen Kammer, die innerhalb von 5 Tagen vollständig resorbiert wurden.

Durch Injektion von 0,1 ml Eigenblut des Kaninchens in die vordere Augenkammer wurde ein Gerinnsel produziert. Spülung der Augenkammer mit experimentellem Hyphema mit 2500 bzw. 5000 Einheiten Urokinase pro ml brachte nach 4 bis 5 Minuten eine Lyse, die nach 10 Minuten allmählich abnahm, bis sie nach 30 Minuten ganz sistierte. Die noch verbliebenen kleinen Thrombusreste verschwanden innerhalb von 5 bis 10 Tagen. Thromben im Alter von einer Stunde resp. sechs Tagen wurden an je vier Augen in gleichem Ausmaß gut lysiert. Gerinnsel der vorderen Kammer sollen nicht resistent werden gegen Fibrino-

lyse. Mit den verschiedenen Urokinase-Dosierungen wurden identische Resultate erzielt. Die guten Lysiserfolge wurden aber von so starken lokalen Reizwirkungen abgelöst (Hyperämie der Iris, Injektion des Ciliarkörpers, starke Fibrinablagerungen, die nach einem Tag die ganze vordere Kammer ausfüllten, Trübung der Cornea), daß Urokinase für den intraokkulären Gebrauch am Kaninchen nicht empfohlen werden kann, wenn auch nach 10 bis 20 Tagen die Augen wieder normal erschienen.

Die schnell abnehmende lytische Wirksamkeit könnte auf dem Inhibitorgehalt eines sekundär gebildeten proteinreichen Kammerwassers beruhen; Untersuchungen wurden darüber nicht vorgenommen.

XIII. Thrombolytische Therapie mit Urokinase beim Menschen

An dem noch relativ kleinen Erfahrungsmaterial soll aufgezeigt werden, inwieweit Urokinase den Anforderungen an ein ideales Thrombolytikum entspricht. Der Anwendung der Urokinase in der Therapie auf breiterer Basis stehen bisher vor allem die hohen Kosten entgegen (1 Million Einheiten kosten 5334, - DM, etwa 1000 l Urin ergeben eine Tagestherapiedosis Urokinase - MARX 1965 a).

1. Bisherige klinische Ergebnisse

a) Systematisierte fibrinolytische Aktivität durch Urokinase

JOHNSON et al. (1963a und b, 1964) sind bisher die einzigen Autoren, die die Wirkung hochgereinigter Urokinase-Präparate auf experimentell erzeugte Thromben an Freiwilligen untersuchten. Leider hat JOHNSON bisher noch keine ausführliche Darstellung über seine Methodik und Ergebnisse herausgebracht. 1959 wurden von dieser Forschergruppe schon 38 Thromben von 5 bis 20 cm Länge in peripheren Venen von Freiwilligen durch Intimaverletzung erzeugt und versucht, durch Streptokinase-Infusion in die kontralaterale Extremität die 24 bzw. 48 Stunden alten Gerinnsel durch variierende Dosierung aufzulösen. Die Erfolge wurden durch Venographie vor und nach der Infusion belegt.

26 Probanden wurde Urokinase in Dosen von 1 bis 842 000 PLOUG-Einheiten infundiert. Antigene, toxische oder thromboplastische Wirkungen waren nicht nachweisbar. Da nach den Angaben der Autoren der Urokinase-Inhibitor nicht quantitativ neutralisiert zu werden braucht und nur geringe individuelle Schwankungen zeigte, konnte die Initialdosis relativ konstant gehalten werden im Gegensatz zur Therapie mit Streptokinase. Intravasculäre artefizielle Thromben bei 12 Probanden wurden alle schnell lysiert. Der dazu benötigte Urokinasespiegel des Plasmas war viel geringer als derjenige, der eine Hyperplasminämie hervorruft. Bei sehr schneller Infusion der Urokinase entwickelte sich eine Plasminogenerschöpfung, wie sie oft nach Streptokinase beobachtet wird, mit Rethrombosierung. Die Urokinase-Dosis wurde so gewählt, daß in vivo in Gegenwart von endogenem Urokinase-Inhibitor eine große Menge Aktivator im strömenden Blut hervorgerufen und dennoch eine Plasminogenerschöpfung unter 20% des Normalspiegels vermieden wurde. Die optimale Infusionsmenge der

Urokinase war zwar kritisch im Hinblick auf das endogene Plasmin, aber dennoch konnte bei allen Individuen mit der gleichen konstanten Erhaltungsdosis eine persistierende Thrombolyse erreicht werden.

Daß es möglich ist, Urokinase - auch in großen Dosen - intravaskulär ohne starke Nebenwirkungen zu verabreichen, zeigten HANSEN et al. (1961), die 22 Patienten mit thrombo-embolischen Erkrankungen verschiedene Urokinase-Präparate injizierten. Die Autoren konnten zwar in keinem Fall einen vollen klinischen Erfolg beobachten, das kann auf mehrere Ursachen zurückgeführt werden:

Der Thrombus war in vielen Fällen sicher zu alt (zweimal ein geschätztes Thrombusalter von 30 Tagen!)

Die Dauer der fibrinolytischen Aktivität im Blut war zu kurz und die Dosierung zu niedrig. Zum Teil wurden Einzelinjektionen gegeben in einem Abstand von mehr als 24 Stunden. Bei sechs Patienten wurde an eine Initialinjektion eine langsame Infusion über 1 bis 3 Stunden angeschlossen. Ein Patient erhielt sechs langsame Infusionen. Die Dosierung pro Injektion bewegte sich zwischen 18 000 und 500 000 PLOUG-Einheiten, die Gesamtdosis lag zwischen 18 000 und 1 360 000 PLOUG-Einheiten Urokinase.

Bei 7 von 11 Patienten, die zwischen 250 000 und 500 000 Einheiten Urokinase erhielten, zeigte das Plasma 10 Minuten nach der Injektion eine Spontanlysis nach Recalzifizierung in weniger als drei Stunden, die übrigen vier Patienten wiesen nur eine verminderte meßbare Inhibitor-Aktivität auf bei der Lyse eines Standardrindergerinnsels durch Urokinase. 30 Minuten nach der Injektion - oder bei niedrigeren Dosierungen nach 10 Minuten - konnte in den entnommenen Blutproben keine fibrinolytische Aktivität mehr nachgewiesen werden, während noch 24 Stunden nach der Injektion der meßbare Inhibitor-Gehalt aller Blutproben vermindert war.

Nur bei einem Patienten konnte 10 Minuten nach der Injektion kein Fibrinogen nachgewiesen werden, sonst blieb der Fibrinogenspiegel bei allen Patienten unverändert. In keinem Fall traten Blutungen auf.

Über Erfahrungen mit hochgereinigten Urokinasepräparaten berichten FLETCHER et al. (1965). Es wurden Präparate der ABBOT Laboratories, Chicago und des STERLING-WINTHROP Research Institutes, Rensselaer, New York mit einer spezifischen Aktivität von 35 000 CTA Einheiten pro mg Protein 32 Patienten in 38 intravenösen Infusionen appliziert. Es handel-

te sich um Patienten mit thrombo-embolischen Gefäßleiden oder um Rekonvaleszenten verschiedener chronischer Krankheiten.

Die Dosierung betrug zwischen 25 000 und 1 Million Einheiten pro Stunde, die Infusionslösung enthielt 50 000 CTA Einheiten pro ml. Die infundierten Gesamtmengen lagen zwischen 250 000 und 15 000 000 Einheiten Urokinase.

Bestimmung der Lysezeit von Plasmagerinnseln von 55 Patienten in vitro durch variierende Urokinase-Konzentrationen führte zu der Vermutung, daß Infusionen mit einer Standarddosis Urokinase eine vorhersagbare fibrinolytische Aktivität erzielen würden.

Durch eine Initialdosis von 250 000 Einheiten in 10 Minuten und Erhaltungsdosen von 250 000 Einheiten pro Stunde, 6 Stunden lang infundiert, konnte die fibrinolytische Aktivität gegenüber der Norm um einige hundertmal vergrößert und während der ganzen Infusion aufrechterhalten werden. Die Bestimmungen durch radioaktive Gerinnsel, Euglobulinlysezeit und Fibrinplatte entsprachen einander. Der Fibrinogenspiegel war am Ende der Infusion nur auf 200 mg % gegenüber 280 mg % des Präinfusionswertes gesunken, die Thrombinzeit stieg von 10 auf 18 Sekunden, der Plasma-Plasminogentiter fiel von 4,2 auf 0,9 Caseineinheiten pro ml.

Durch Erhöhung der Erhaltungsdosis auf 500 000 Einheiten pro Stunde für 90 Minuten und 1 000 000 Einheiten pro Stunde für 30 Minuten konnte die fibrinolytische Aktivität noch weiter gesteigert werden. Am Ende der Infusion traten nun vorübergehend Blutungen aus kleinen Wunden auf.

Zwischen der vermehrten fibrinolytischen Aktivität und der Erhaltungsdosis ließ sich in jedem Fall eine gute Korrelation feststellen. Die Urokinase wurde auf der Basis des Körpergewichtes ohne Inhibitorbestimmung bei 8 Patienten festgelegt. Initialdosen von 3 521 $\pm$ 1 260 CTA Einheiten pro kg Körpergewicht in 10 Minuten mit anschließender Erhaltungsdosis von 3 953 $\pm$ 767 CTA Einheiten pro kg Körpergewicht und Stunde wurden 18 bzw. 30 Stunden infundiert. Die Plasmakomponenten wurden durch die Urokinase-Infusion bei den verschiedenen Patienten quantitativ voraussagbar und reproduzierbar verändert. Die fibrinolytische Aktivität des Plasmas konnte durch diese Dosierungen für 30 Stunden stark gesteigert werden. Wahrscheinlich ist eine noch längere Infusionsdauer möglich. Prothrombin- und Recalzifizierungszeit waren so gering verändert, daß den Autoren Komplikationen durch Hämorrhagien unwahrscheinlich erscheinen.

Der Plasminogenspiegel hielt sich meistens einige Stunden nach Infusionsbeginn auf 20% bis 40% des Ausgangswertes.

Die Autoren berichten über zwei erfolgreiche, venographisch belegte Thrombolysen durch Urokinase. Es handelt sich um eine Patientin mit Thrombosen der oberflächlichen und tiefen Venen an beiden unteren Extremitäten. 36 Stunden nach Auftreten der Thromben wurden 250 000 Einheiten Urokinase pro Stunde infundiert über 36 Stunden. In dem anderen Fall wurde ein 24 Stunden alter Thrombus der vena femoralis durch Infusionen von 350 000 CTA Einheiten Urokinase pro Stunde über 16 Stunden aufgelöst.

Auf Grund ihrer Untersuchungen kommen FLETCHER et al. zu dem Ergebnis, daß Urokinase als erfolgversprechendes Thrombolytikum wahrscheinlich qualitativ, wenn nicht quantitativ in vivo dem natürlichen Plasma-Aktivator ähnlich wirkt.

HESS et al. (1966) berichten über Urokinase-Therapie bei rezidivierenden Embolien in Extremitätenarterien. Bei einer 56jährigen Patientin mit kombiniertem Mitralvitium wurde zunächst versucht, die multiplen embolischen Verschlüsse großer Arterien beider Beine durch Streptase-Infusionen über vier Tage, kombiniert mit Antikoagulantien, zu lysieren. Nach Absetzen von Marcumar wegen absinkender Hämoglobulinwerte und bei überschießendem Anstieg des Fibrinogenspiegels trat 9 Tage später ein erneuter akuter Verschluß im Femoro-Poplitea-Bereich beidseits auf. Da der Streptokinase-Resistenztest jetzt einen Wert von 3,2 Millionen Einheiten als notwendige Initialdosis und damit einen hohen Antikörper-Titer ergab, konnte die wiederholte Anwendung von Streptase nicht verantwortet werden. Es wurde zunächst eine Heparin-Behandlung eingeleitet. Dank einer Spende war es möglich, 29 Stunden nach dem akuten Ereignis 3,2 Millionen Einheiten Urokinase der ABBOT Laboratories USA und 2 Millionen Einheiten der Firma LEO Dänemark einzusetzen (insgesamt 4,46 Millionen CTA Einheiten oder 3,12 Millionen PLOUG Einheiten Urokinase).

Da keine größeren Mengen Urokinase zur Verfügung standen, wurde eine sehr niedrige Dosierung gewählt: eine Initialdosis von 250 000 ABBOT Einheiten in einer Stunde, anschließend stündlich 100 000 ABBOT Einheiten für 14 Stunden, 50 000 ABBOT Einheiten für 26 Stunden, 70 000 PLOUG Einheiten (200 000 ABBOT Einheiten) für 28,5 Stunden als intravenöse Infusion. HESS et al. übersahen, daß die deklarierten Einheiten der Urokinase-Präparate verschiedener

Firmen nicht gleichzusetzen sind. So entspricht die Initialdosis mit 250 000 CTA Einheiten Urokinase, die FLETCHER et al. (1965) infundierten, der doppelten Menge, die hier appliziert wurde (250 000 ABBOT Einheiten).

Unter dieser niedrigen Dosierung ist im Vergleich zur Streptokinase-Behandlung das Fibrinogen langsam abgefallen, die Thrombinzeit trager und maximal auf Werte bis zum 2 1/2fachen angestiegen. Im Prinzip sind aber bei diesen Faktoren die gleichen Veränderungen eingetreten wie unter Streptokinase-Behandlung. Sowohl das Thrombelastogramm als auch die Spontan-Papierfibrinolyse wiesen erst am dritten Tag der Urokinase-Behandlung eine bemerkenswerte fibrinolytische Aktivität zwischen 45% und 100% auf. Kontrollangiographien zeigten nur eine partielle Lyse der frischen Verschlüsse, was wohl auf die niedrige, verzettelte Dosierung zurückzuführen ist.

Urokinase war nach Streptokinase-Therapie ohne Komplikationen gut verträglich. Subjektiv war die Patientin beschwerdefrei.

LIPPSCHÜTZ, AMBRUS et al. (1965) behandelten in doppeltem Blindversuch 84 Patienten mit Herzinfarkt mit Urokinase-aktiviertem Humanplasmin oder Placebo. Alle Patienten wurden innerhalb von 48 Stunden nach Beginn des akuten Ereignisses therapiert mit einer intravenösen Dextroseinfusion, die entweder Urokinase-Plasmin (in Dosierungen wie bei Venenthrombosen) oder Albumin enthielt für 6 bis 8 Stunden, jeweils an drei Tagen. Nach Infusionsende wurde vier Stunden vor der nächsten Infusion Heparin verabreicht und gleichzeitig oral ein Dicumarol-Präparat.

Zwischen den beiden Gruppen bestand kein signifikanter Unterschied in bezug auf Mortalität, EKG, SGOT- und LD-Spiegel. Von den Patienten, die in die Gruppe mit der schlechtesten Prognose eingereiht wurden, starben 47% in der Kontrollgruppe und 24% in der Plasmin-behandelten Gruppe. Aber die Patientenzahl ist zu klein, um daraus definitive Schlüsse zu ziehen.

Das bisher in der Literatur vorliegende Material ist noch zu gering und inhomogen, um eindeutig Resultate über die fibrinolytische Therapie bei Coronarocclusionen zu gewinnen. Ein Thrombolytikum wird wenig sinnvoll sein, wenn ein Herzinfarkt durch andere Ursachen bedingt ist, z.B. schwere Atherosklerose (in 30% bis 40% klinisch diagnostizierter Infarkte sind keine frischen Thromben nachweisbar! - SCHMUTZLER und KOLLER 1965) oder wenn die Thrombose nur der letzte Schritt zur Blockierung einer atherosklerotisch verengten Ar-

terie ist. Die kurze Lebensfähigkeit des aus der Blutversorgung ausgeschlossenen Herzmuskels (maximal 4 bis 8 Stunden nach RUEGSEGGER et al. 1960) und die schwere Belastung durch eine coronarangiographische Darstellung beim Infarkt erschweren die Beurteilung der thrombolytischen Therapie.

Wahrscheinlich wird es nur in einzelnen Fällen mit gutem Kollateralkreislauf bei sehr frühzeitigem Behandlungsbeginn (innerhalb 2 bis 3 Stunden) möglich sein, einen thrombotischen Verschluß einer Coronararterie ohne Gewebszerfall innerhalb kurzer Zeit zu rekanalisieren. Das retrograde Wachstum des Thrombus kann verhindert werden und durch die Auflösung der kapillären und interstitiellen Mikrothrombosen die Ausdehnung des Infarktgebietes so klein wie möglich gehalten werden. Außerdem werden durch die fibrinolytische Therapie extracardiale thrombo-embolische Komplikationen verhütet oder entfernt.

Über Versuche einer Thrombolyse bei akuten Coronarverschlüssen mit reinen Urokinase-Präparaten liegt bislang keine Literatur vor.

b) Fallbericht der I. Medizinischen Klinik der Universität München

An der I. Medizinischen Klinik der Universität München wurde 1965 in Zusammenarbeit von Herrn Prof. Dr. med. R. Marx und Herrn Dr. med. Gurland ein okkludierter Scribner-Shunt mit Hilfe von Urokinase lysiert. Es dürfte sich hierbei um den ersten Urokinase-Therapiefall in Deutschland handeln.

Der Patientin M.M., 27 Jahre, war zur Dauerdialyse bei Niereninsuffizienz am 4.12.1963 ein Scribner-Shunt eingebaut worden. Am 26.3.1964 trat erstmals ein arterieller Verschluß auf, der durch Streptokinase eröffnet wurde. Am 21.4.1964 konnte durch mechanische Maßnahmen der verschlossene venöse Schenkel des Shunts rekanalisiert werden. Nach erneuter Streptokinase-Zufuhr am 3.5.1964 trat eine allergische Reaktion auf. Am 20.5.1965 wurden bei der vierten Shuntverstopfung eine Million Einheiten Urokinase der Firma Leo, Ballerup - Dänemark, appliziert.

Die Patientin war mit hohen Heparindosen behandelt worden. Die Blutuntersuchungen (1 Uhr nachts) ergaben keine Gerinnung des Venenblutes nach Dialyse mit Thrombin, nach Ausschaltung des Heparins mit Protaminsulfat prompte Gerinnung. Die Lee-White-Nativvenenblut-Gerinnungszeit war größer 3 Stunden in vitro. Die Thrombinzeit mit 60 Einheiten Thrombin pro ccm grö-

ßer 3 Minuten, mit Zusatz von 1/10 Vol. Protaminsulfatlösung zum Plasma 7,5 Sekunden.

1 Uhr 40 Min. nachts: nach 75 000 LEO-Einheiten Urokinase örtlich am Shuntverschluß:
Lee-White-Nativvenenblut-Gerinnungszeit größer 2 Stunden, Thrombinzeit mit 1/10 Vol. Protaminsulfat 5 Sekunden.
2 Uhr 40 Min.: nach 150 000 Einheiten Urokinase örtlicher Anwendung:
Nativvenenblut-Gerinnungszeit nach Lee-White größer 30 Min., Thrombinzeit mit 6 Einheiten Thrombin pro ccm 67 Sekunden, Thrombinzeit mit 1/10 Protaminsulfatlösung 2,5 Sekunden.

Bisher zeigte das Ergebnis:
Die örtliche Urokinase-Applikation hatte keinen Einfluß auf die langsame Wiederentfernung des Heparins aus dem Kreislauf, auf die die Verkürzung der Thrombinzeit zurückzuführen ist. Es findet sich keine Verlängerung der Thrombinzeit durch Fibrinabbauprodukte, die allenfalls aus dem Gebiet des Urokinase-Abbaues in den Kreislauf hätten gelangt sein können. Es ist allerdings zu berücksichtigen, daß die Urokinase - solange der venöse Verschluß nicht beseitigt war - über den Verschlußthrombus außen gerichtet war und somit nicht direkt in den Kreislauf gelangte.

Am 21.5.1965 wurde ein "Urokinase-Resistenztest" angesetzt nach dem Prinzip eines Streptokinase-Resistenztestes; er dürfte ein Maß für die vorliegende Antifibrinolysokinasen (Antiurokinase) und Antiplasmine sein.

Unter den Bedingungen des Resistenztestes (Bestimmung der Streptokinase- bzw. Urokinase-Menge, die imstande ist, ein Gerinnsel aus 0,8 ml Citratblut und 0,1 ml Thrombin - 10 Einheiten pro ml - innerhalb 10 Minuten zu lösen) ergaben 45 Einheiten 10 Minuten Lysiszeit, d.h. um in vivo eine Lysis zu erzielen, wurden 360 000 LEO-Einheiten Urokinase benötigt.

Einer Initialdosis von 350 000 Einheiten Urokinase intravenös folgte eine Infusion von 100 000 Einheiten pro Stunde über zwei Stunden, die restlichen 300 000 Einheiten wurden in 1 1/1 Stunden infundiert.

Nach zwei Stunden zeigte das Nativvenenblut in 30 Minuten keine Lysis. Die Amplitude des Thrombelastogramm war gegenüber der Norm etwas verschmälert (r - 13 Minuten, ma - 42, nach 60 Minuten ma - 15, d.h. weitgehende Lysis). Gerinnungszeit nach Lee - White, Thrombinzeit normal. Quick-Index mäßig verlängert.

Durch die Urokinase-Infusion wurde eine Lockerung des okkludierten Scribner-Shunts soweit erreicht, daß das Gerinnsel entfernt werden konnte.

Man hätte wahrscheinlich die Anfangsdosis erheblich höher halten müssen, um eine totale Lysis zu erzielen (Totaldosis von mehreren Millionen Einheiten Urokinase?). Es ist zu bedenken, daß bei Nephropathien der Inhibitoreffekt des Plasmas erheblich erhöht sein kann durch hochmolekulare Antiplasmine (z.B. α_2-Makroglobulin). Es könnte dies eine verteuernde Schwierigkeit der Urokinase-Therapie bei renalen Erkrankungen sein.

c) Lokale Therapie mit Urokinase

Wegen der großen Kosten kam bisher eine lokale Therapie mit Urokinase (z.B. bei Ulcera, Abszessen, Sinusitis, Lungenabszeß, eitrige Arthritiden, Osteomyelitit) in Form von feuchten Umschlägen, Flüssigkeitsinstillationen oder Sprays nicht in Frage. Es wurde lediglich die lokale Applikation von Urokinase direkt in das menschliche Auge (PIERSE et al. 1963), intraventrikuläre, intrathekale und subdurale Instillation durch STEWART (1964) und eine Kombination von Infusion und Aerosol zur Therapie hyaliner Membranen bekannt.

Therapie des Hyphema mit Urokinase

Mäßigen oder schweren Kontusionen des menschlichen Auges folgt oft eine Blutung in die vordere Augenkammer. Häufig wird das Blut spontan komplikationslos resorbiert. Daneben treten aber bedeutend ernstere Sekundärblutungen ungefähr fünf Tage nach dem initialen Trauma auf. Sie führen zu totalem Hyphema, meistens verbunden mit akutem sekundärem Glaukom als Folge des blockierten Kammerwasserabflusses durch Fibrin und mit irreversiblen Trübungen der Cornea. Das Hyphema stellt sicher ein lohnendes Objekt für eine thrombolytische Therapie dar, aber wegen der starken lokalen Reizerscheinungen oder mangelnder Erfolge durch Unterdosierung wurden die Versuche am tierischen und menschlichen Auge mit Streptokinase oder Plasminpräparaten wieder fallengelassen. Nur von SCHMUTZLER und KOLLER (1965) wird ein guter Lysiserfolg durch Plasmin (Actase) am Kaninchenauge berichtet. Um so bemerkenswerter sind die Ergebnisse von PIERSE et al. (1962, 1963).

Die Autoren berichten über acht Fälle mit totalem Hyphema. Bei fünf Patien-

ten lag eine typische sekundäre Blutung mit Anstieg des intraocculären Druk-kes vor, bei den übrigen Patienten kam eine Komplikation durch Bulbusriß hinzu. Durch Spülung der vorderen Augenkammer mit 5 000 bis 25 000 Einheiten Urokinase der Firma LEO, Dänemark, wurden in den ersten funf Fällen die Gerinnsel gelöst. Die Lyse begann zwei Minuten nach Therapiebeginn. Der intraocculare Druck normalisierte sich wieder. Wurde die Spülung vor dem vollständigen Verschwinden des Gerinnsels beendet, so trat in den folgenden 24 Stunden weitere Klärung auf. Von Bedeutung ist, daß es zu keinen Nebenwirkungen auf Grund der Urokinase-Therapie kam im Gegensatz zur tierexperimentellen Lyse (HÖRVEN 1964). Es muß noch geklärt werden, ob sich die starken Reizerscheinungen allein durch die Verunreinigung der verwendeten Präparate erklären lassen und ob die Resultate von PIERSE und Mitarbeitern reproduzierbar sind, ob Urokinase eventuell sekundäre Blutungen an den zerstörten Gefäßen induziert.

Therapie von Meningitis und Ventrikulitis

Versuche einer fibrinolytischen lokalen Therapie mit Urokinase unternahm STEWART (1964). Fibrinablagerung in Meningen und Ventrikeln des Zentralnerven-Systems sind Folgen der Infektion cerebro-spinaler Räume. Da das Fibrin oft nur langsam resorbiert wird, instillierten mehrere Autoren Streptokinase- oder Trypsinlösungen (Literatur bei STAMM 1962). Blockierungen der subtentorialen und basalen Cisternen konnten lysiert werden (FLETCHER 1954). Es wird aber auch über schwere Komplikationen als Folge der Therapie berichtet. STEWART (1964) wählte aus einem Krankengut von 150 Kindern mit primärer oder sekundärer Meningitis 13 Patienten für eine fibrinolytische Therapie aus, da die Fibrinablagerungen nicht spontan resorbiert wurden. Die Therapie wurde mit Urokinase (LEO), 9 Patienten, und Streptokinase (KABI), 4 Patienten, intraventrikulär ausgeführt. Normalerweise enthält der Liquor keine meßbaren Spuren Plasminogen, aber mit steigendem Proteingehalt nimmt auch der Plasminogenspiegel zu. Insgesamt wurde durch Urokinase bei zwei Patienten eine dauernde (48- bzw. 4tägige Behandlung mit 5 000 bis 10 000 PLOUG-Einheiten täglich), bei vier Patienten eine zeitweise, durch Streptokinase eine temporäre (6tägige Behandlung) Besserung erzielt. Inhibitoren konnten im Liquor nicht nachgewiesen werden. Beide Aktivatoren wurden ohne Nebenwirkungen vertragen.

Wenn man berücksichtigt, daß bei allen Kindern - mit Ausnahme von zwei Patienten - eine congenitale Mißbildung des Zentralnerven-Systems vorlag,

sind die Erfolge ermutigend, obwohl fünf Kinder mit akutem Hydrocephalus starben.

Idiopathisches Atemnotsyndrom (Hyaline Membranen)

Da in jüngster Zeit (AMBRUS et al. 1963) eine kombinierte Therapie von Infusion und lokalem Spray mit Urokinase-Plasmin zur Beeinflussung hyaliner Membranen verwandt wurde, soll das idiopathische Atemnotsyndrom an dieser Stelle ausführlicher abgehandelt werden.

Ein großer Teil Frühgeborener erstickt nach einem freien Intervall unter fortschreitender Zyanose und Dyspnoe im Ablauf von 24 bis 36 Stunden. Autoptisch findet man eine weitgehend atelektatische Lunge, die Ductus alveolares und geblähten Alveolen sind mit hyalinen Membranen ausgekleidet, die zum größten Teil aus Fibrin bestehen. Das idiopathische Atemnotsyndrom findet man fast ausschließlich bei Frühgeborenen, Kaiserschnittkindern und Kindern diabetischer Mütter. Die Prognose ist sehr ernst, von Fall zu Fall können einige Kinder überleben. Die Therapie bestand bisher in Zufuhr von Sauerstoff und Glucose als Energieträger und in der Bekämpfung der Acidose (KELLER und WISKOTT 1965). Auf Grund der Ergebnisse von AMBRUS et al. besteht gewisse Hoffnung, durch fibrinolytische Therapie die Prognose entscheidend zu bessern.

Die Pathogenese der Membranen ist noch immer umstritten. LIEBERMANN (1963) glaubt, daß die Akkumulation des Fibrins durch Hemmung normaler fibrinolytischer Prozesse in der Lunge infolge einer starken Vermehrung von Inhibitoren des Plasminogen-Aktivators erklärt werden könne. Außerdem soll ein Mucoprotein fehlen, das die Oberflächenspannung der Alveolen während der Expiration herabsetzt, so daß Atelektasen entstehen können.

KUNZER und STRODER (1961) beobachteten ebenfalls vermehrte Inhibitor-Aktivität bei Frühgeburten. QUIE und WANNAMAKER (1960) kamen zu dem Ergebnis, daß bei rechtzeitig geborenen Säuglingen bis etwa sechs Wochen nach der Geburt ein Mangel an Plasminogen vorliegt, die meßbare Inhibitoraktivität bei reifen und unreifen Säuglingen leicht vermindert ist, der Proaktivatorspiegel normal.

AMBRUS (1963) untersuchte das fibrinolytische System an reifen und unreifen Säuglingen mit hyalinen Membranen und an Neugeborenen diabetischer

Mütter und stellt als wesentliche Ursache der hyalinen Membranen den Mangel an Plasminogen bei Frühgeborenen heraus. Der Antiplasmingehalt war bei 25% der Kinder mit idiopathischem Atemnotsyndrom signifikant erhöht. Die Autorin findet einen erhöhten Aktivatorgehalt, der aber wegen des Plasminogenmangels ohne Wirkung bleibt. Durch histologische Untersuchung an einer Neugeborenenlunge mit hyalinen Membranen wurden diese Befunde in letzter Zeit bestätigt (ROBBERTS 1965).

Die differenten Ergebnisse von AMBRUS und LIEBERMANN dürften z. T. durch die Methodik eine Erklärung finden: LIEBERMANN verwendet Rinderfibrinplatten, während bei AMBRUS alle Reagentien humanen Ursprungs sind. Wegen der Labilität des Aktivators führte die Autorin die Autopsie so früh wie möglich durch.

CLARA AMBRUS behandelte von 45 Kindern mit idiopathischem Atemnotsyndrom 33 in doppeltem Blindversuch. Es handelte sich in allen Fällen um Frühgeborene, Kinder diabetischer Mütter und um Kinder, die wegen Blutung durch Kaiserschnitt entbunden wurden. Die Diagnose wurde röntgenologisch und durch den klinischen Aspekt gestellt.

11 Kinder erhielten ein Placebo - 5 = 45% überlebten.
8 Kinder erhielten Humanplasmin mit Streptokinase aktiviert - 2 = 25% überlebten.
14 Kinder erhielten Humanplasmin mit Urokinase aktiviert -
12 Kinder = 86% überlebten.

Die Therapie bestand in einer Kombination von Infusionen durch die Nabelvene und einer Aerosollösung bis zur Besserung oder bis zum Exitus. Trotz des zahlenmäßig kleinen Krankengutes beeindruckt die Überlegenheit des Urokinase-Plasmins. Die zwei Kinder, die nach Urokinase-Plasmin-Therapie starben, zeigten autoptisch ausgedehnte intracranielle Hämorrhagien, in der Lunge eosinophile Fragmente, wenig hyaline Membranen, die gedeutet werden konnten als beginnende oder sich lösende Phase. Intracranielle Hämorrhagien treten oft mit hyalinen Membranen gemeinsam auf und waren in der Plasmin-behandelten Gruppe nicht häufiger als in der Placebo-Gruppe. Durch die Plasmintherapie entstanden keine bedeutenden Nebenwirkungen.

Da AMBRUS den kausalen Faktor des Syndroms wesentlich in dem Plasminogenmangel sieht, wäre eine Therapie mit Aktivatoren nicht sinnvoll. Sie erklärt den Erfolg durch Urokinase-Plasmin in einer größeren Affinität zu Fibrin in Gegenwart von Antiplasminen im Vergleich mit Streptokinase-Plasmin und

setzt dabei die Theorie des reversiblen Plasmin-Antiplasmin-Komplexes in Gegenwart von Fibrin voraus (AMBRUS et al. 1960). Bei der Therapie mit Plasmin und Aktivator läßt sich nicht sagen, welche Komponente die größere fibrinolytische Aktivität entwickelt. Im Verhältnis zur Gesamtaktivität der Antiplasmine des Blutes dürften die Plasminpräparate in vivo bisher ein geringes Aktivitätspotential enthalten. Da aber die Befunde von LIPPARD und WHEELER (1936) und BOIVERT (1940) darauf hinweisen, daß die Streptokinase-Antikörper der Mutter diaplacentar das kindliche Blut erreichen und dann während der ersten Lebenswochen zerstört werden, kann man eventuell darauf die schlechteren Ergebnisse mit Streptokinase-Plasmin zurückführen und dem Aktivator dann bei Berücksichtigung der Inhibitor-Aktivität nach LIEBERMANN die größere Wirkung zulegen. Mit Streptokinase allein konnte LIEBERMANN (1960) jedenfalls keine Lysis der hyalinen Membranen erreichen. Prof. KOCH, Gießen, berichtete auf dem Symposion über Thrombolyse-Therapie in München - 27. - 28.X.1966 - , daß Streptokinase-Spray keinen Erfolg brachte. Weitere Anstrengungen sollten unternommen werden, die Wirkung des Inhibitors auf Urokinase zu untersuchen bzw. die Wirkung hochkonzentrierter Urokinase-Präparate auf die Lysis hyaliner Membranen.

2. Nebenwirkungen

a) Allgemeine Reaktionen

Nach den bisher gemachten klinischen Erfahrungen aller Autoren scheint Urokinase nicht pyrogen zu sein für den Menschen. Eventuelle pyrogene Symptome sind auf Verunreinigung der Präparate zurückzuführen. HANSEN et al. (1961) legten bei ihren therapeutischen Versuchen mit Urokinase-Injektionen besonderes Gewicht auf pyrogene Nebenwirkungen. Die minimale pyrogene Dosis (MPD) der Präparate wurde durch Kaninchenversuche bestimmt, definiert als die minimale Urokinase-Menge, die bei wenigstens zweien von fünf Kaninchen mit einem Körpergewicht von 3 kg einen Temperaturanstieg von mehr als $0,6^{\circ}$ C bewirkt. Bei 3 von 22 Patienten wurde Nausea, Erbrechen und Temperaturanstieg um mehr als 1°C beobachtet; die Urokinase-Dosis war dabei wenigstens 35mal größer als die minimale pyrogene Dosis.

Bei 38 Infusionen mit hochgereinigter Urokinase (35 000 CTA-Einheiten pro mg Protein) konnten FLETCHER et al. (1965) keinerlei subjektive Symptome feststellen, ausgenommen einen Temperaturanstieg um $0,5^{\circ}$C bei einem

Patienten mit Thrombophlebitis und Pyelonphritis. Untersuchungen über Lebertoxizität am Hund verliefen negativ (ROSCHLAU und PAINTER 1962). Ein Blutdruckabfall trat nie auf.

Schon 1958 ergaben die Untersuchungen von SOKAL und AMBRUS, daß von allen Plasminpräparaten Urokinase-aktiviertes Humanplasminogen die geringsten Nebenwirkungen aufweist und keine nachweisbaren antigenen Eigenschaften hat im Gegensatz zu Streptokinase-aktiviertem Plasmin.

Es kann kein Todesfall, der nach thrombolytischer Therapie auftrat, auf Urokinase zurückgeführt werden.

b) Blutungen

Starke Blutungen im Verlauf einer enzymatischen Thrombolyse treten selten auf. Die Antithrombinbildung kann eventuell durch Hydrocortison zu Beginn der Infusion vermindert werden (DEUTSCH et al. 1960). Eine schwere parenchymatöse Blutung nach Urokinase-Infusion beim Menschen ist bisher nicht bekannt geworden. FLETCHER et al. (1965) beobachtete unter 32 behandelten Fällen 4 leichte Blutungen, zwei an Stellen eines vorangegangenen Traumas, zwei auf Grund eines präexistenten Leidens. Bei den 22 Patienten, die von HANSEN et al. (1961) therapiert wurden, trat keine Blutung auf.

Da JOHNSON et al. (1963 a) der Ansicht sind, daß der zur Thrombolyse benötigte Urokinase-Spiegel im Blut nicht so groß zu sein braucht, daß einer initialen Hyperplasminämie eine exzessive Plasminogenerschöpfung folgt und andererseits durch die relativ geringe individuelle Schwankung der Inhibitor-Mengen leichter optimal dosiert werden kann, sind die Auswirkungen auf die Gerinnungsfaktoren (Hypofibrinogenämie, Abfall von Faktor V, Antithrombin VI-Anstieg) geringer als im Verlauf der Therapie mit anderen Thrombolytika, so daß nur selten eine hämorrhagische Diathese auftreten kann.

c) Thromboplastische Aktivität

FLETCHER et al. (1965) beobachteten bei einem Patienten eine Halbseitenlähmung im Anschluß an die Urokinase-Infusion. Es erwies sich, daß das angewandte Präparat thromboplastisch verunreinigt war. Dieselbe Ursache dürfte der verkürzten Recalzifizierungszeit in frischem Plasma und Hageman-Plasma zu Grunde liegen, die MC NICOL und DOUGLAS (1964) bei fünf Personen als

Folge einer Urokinase-Therapie feststellten. JOHNSON et al. (1964) konnten keine Veränderung der Gerinnungszeit, der Prothrombin- oder Thromboplastingenerationszeit ermitteln. Seitdem nur Präparate verwandt wurden, die einen entsprechenden Null-Koagulationswert aufweisen (ALKJAERSIG et al. 1965), dürfte keine Hyperkoagulation mehr induziert werden.

d) Antigene Wirkung

Der große Vorteil der Urokinase gegenüber anderen Thrombolytika liegt darin, daß es sich um eine Substanz humanen Ursprungs handelt, die keine antigenen Eigenschaften hat. Durch Injektion heterologer Urokinase sind im Tierversuch Antikörper erzeugbar (GUEST und CELANDER 1961; VIGORITO et al. 1965), aber bisher konnte kein Autor nach exogener Zufuhr homologer Urokinase beim Menschen Antikörper nachweisen.

Zwei bis sechs Wochen nach Urokinase-Infusionen sind weder signifikante Abweichungen der Lysiszeiten von Plasmagerinnseln durch Urokinase beobachtet worden (FLETCHER et al. 1965), noch Hautreaktionen nach intracutaner Applikation (MC NICOL 1963), so daß man annehmen darf, daß tatsächlich kein Antikörper gebildet wird und gegen die Wiederholung der Therapie mit Urokinase keine Bedenken bestehen.

3. Antidote

Überdosierungen während der therapeutischen Fibrinolyse lassen sich durch Antidote steuern. Dazu stehen Fibrinolyse-Inhibitoren zur Verfügung, von denen zwei in Westdeutschland im Handel sind: ε-Aminocaoronsäure (EACA) (Behring-Werke, Marburg; Hoffmann - La Roche A.G., Grenzach/Baden) und Trasylol (Bayer A.G., Leverkusen). Zwei peroral wirksame Inhibitoren, AMCHA (Mitsubishi Kasei Kogyo Co., Japan) und PAMBA (VEB Arzneimittelwerk Dresden) stehen zur Zeit noch in klinischer Überprüfung, werden aber wahrscheinlich bald in die Therapie eingeführt werden können. Meistens dürfte allerdings eine Dosierungsänderung in Betracht kommen, zumal die Plasmaclearance der Urokinase mit einer Halbwertzeit von 14 Minuten ziemlich kurz ist (FLETCHER et al. 1965).

a) Überwiegend Inhibitoren der Plasminaktivierung: EACA, AMCHA, PAMBA

Im Zusammenhang der Verminderung der Hämaturie nach Prostata-Operatio-

nen wurde Epsilon-Aminocapronsäure als kompetitiver Hemmstoff der Plasminogenaktivierung in Konzentration von 5×10^{-4}M bereits ausführlich beschrieben. Die Toxizität ist sehr gering, die Ausscheidung erfolgt rasch bis zu 80% unverändert im Urin. Kontraindikationen sind deswegen lediglich Niereninsuffizienz (Kumulationsgefahr) und nach amerikanischen Mitteilungen Schwangerschaft, da EACA Mißbildung induzieren soll (MARX 1962 b).

Zur Hemmung der fibrinolytischen Aktivität werden 5 gr bis 10 gr in 15 bis 30 Minuten infundiert oder peroral verabreicht alle 4 bis 5 Stunden wegen der schnellen Ausscheidung. Die Wirkung setzt sofort ein (STAMM 1962; v. KAULLA 1963; SCHMUTZLER und KOLLER 1965).

1962 beschrieb OKAMOTO 4-Aminomethyl-zyklohexancarbonsäure (AMCHA) als Fibrinolyse-Inhibitor, dessen eines Isomeres wesentlich wirksamer ist als EACA.

P-Aminomethyl-benzoesäure (PAMBA) wurde 1963 von LOHMANN et al. als Antidot gefunden und von MARKWARDT et al. (1964) experimentell und klinisch untersucht. SUNDERMANN und VOGEL (1965) berichten über die erfolgreiche Verwendung von PAMBA oral bei "Hyperurokinasurie".

Alle drei synthetischen Substanzen sind oral und parenteral anwendbar und relativ gut verträglich. MARX (1966) fand, daß sich AMCHA in seinen Versuchen als Antifibrinolytikum 10- bis 20mal wirksamer erwies als EACA und etwa 2 1/2mal so wirksam wie PAMBA. Zwar sei derzeit pro mg Substanz Trasylol den genannten Fibrinolytika gegenüber das wirksamste Antifibrinolytikum, als Antagonist gegen Urokinase jedoch sei AMCHA ungefähr 5mal stärker wirksam als Trasylol.

b) Kallikrein-Inhibitoren

Trasylol der Farbenfabriken Bayer A.G., Leverkusen, ist ein natürlicher, aus tierischer Parotis, Lunge und Leber gewonnener Kallikrein-Inhibitor, ein Polypeptid mit einem Molekulargewicht von 11 600. MARX et al. (1959) zeigten erstmals, daß Kallikrein-Inhibitor neben der antitryptischen auch antifibrinolytische Wirkung besitzt. Der Wirkungsmechanismus ist noch nicht ganz aufgeklärt. Nach STEICHELE und HERRSCHLEIN (1961) und MARX (1962 a) ist Trasylol ein kompetitiver Inhibitor der Plasminogen-Aktivierung durch Streptokinase und Urokinase und inhibiert gleichzeitig in geringerem

Maße die Plasminwirkung auf Fibrin. Trasylol ist kein Antiplasmin und inaktiviert deswegen freies Plasmin nicht. Außerdem soll auch die Umwandlung des Proaktivators durch Streptokinase gehemmt werden (BECK et al. 1963). Damit findet die Beobachtung von BLIX (1964 b), daß Trasylol Streptokinase stärker hemmt als Urokinase, eine Erklärung. Die Aktivität von Urokinase-aktiviertem Plasmin bleibt in der Euglobulinfraktion unverändert, da Trasylol nicht mit den Euglobulinen präzipitiert. Auf den verschiedenen Angriffspunkten des Inhibitors im fibrinolytischen System dürfte das "Potenzierungsphänomen" der Kombinationstherapie von Trasylol mit EACA beruhen, das MARX (1962 b) beobachtete. Die Reaktionszeit der Nativblutgerinnung und die Prothrombinzeit bei Verwendung des Parotisinhibitor werden nur unbedeutend verändert. Das ist wichtig, weil bei manchen Formen von Hyperfibrinolyse bereits eine Störung der Blutgerinnung bestehen kann, die zumindest in der Phase der latenten oder manifesten hämorrhagischen Diathese es wünschenswert erscheinen lassen, die Hyperfibrinolyse mit möglichst gerinnungsneutralen Mitteln bekämpfen zu können (MARX 1959).

Trasylol ist gut verträglich, die Hemmwirkung setzt sofort ein. Es wird mit 50 000 bis 150 000 Einheiten intravenös als Tropfinfusion therapiert oder als Kombination von EACA bis 10 gr täglich i.v. und Trasylol bis 60 000 Einheiten täglich i.v. als Infusion, um einen dauernden Blutspiegel an Inhibitor zu erreichen, da es nur präsent wirkt (MARX 1965 b; SCHMUTZLER und KOLLER 1965).

Es wurde bereits erwähnt, daß Trasylol nur in Spuren im Urin ausgeschieden wird und deswegen die Urokinase im Harntrakt nicht inhibiert.

c) Pankreas-Inhibitoren

KUNITZ und NORTHROP (1936) isolierten aus dem Pankreas von Säugetieren ein Polypeptid mit antiproteolytischer Aktivität. Der Kunitzinhibitor (Iniprol^{R}) hat antitryptische, antichymotryptische und antifibrinolytische Eigenschaften. Er hat eine schwache antithromboplastische Wirkung und wird nach intravenöser Applikation gut vertragen. Die Plasminogen-Aktivierung durch Urokinase wird nur in geringem Ausmaß durch den Pankreasinhibitor gehemmt (SOULIER et al. 1960). Inzwischen wurde festgestellt, daß der Trypsin-Inhibitor aus Pankreas mit Kallikrein-Inhibitor (Trasylol) chemisch identisch ist (MARX 1966).

d) Pflanzliche Inhibitoren

Aus Sojabohnen, Erdnüssen und anderen Pflanzen wurden Inhibitoren der fibrinolytischen Aktivität isoliert.

Der Sojabohnentrypsin-Inhibitor soll nach STRÄSSLE (1960) zwei Komponenten besitzen, von denen die eine nur Trypsin, die andere Plasmin hemmen soll. Die Esteraseaktivität des Serums soll durch die Inhibitoren der Sojabohne nicht beeinflußt werden. SOULIER et al. (1960) wiesen bei der Sojabohne eine schwache Inhibitorwirkung auf Urokinase in vitro nach. Streptokinase wurde in größerem Ausmaß gehemmt. Gleichzeitig zeigte der Sojabohnentrypsin-Inhibitor eine starke antikoagulative Wirkung, er verlängerte die Prothrombin- und Proaccelerinzeit. TAGNON versuchte erstmals 1946 die erhöhte fibrinolytische Aktivität im Blut bei Prostata-Carcinom durch diesen Inhibitor herabzusetzen. Aber die schlechte Verträglichkeit, die Auswirkung auf das Koagulationssystem und die schwierige Herstellung des Präparates ermutigten nicht zu weiteren Versuchen.

Erdnußextrakte sollen eine antifibrinolytische Wirkung haben. BRAKMAN et al. (1962) konnten durch orale Verabreichung entfetteter, ungerösteter Erdnüsse in leichten Fällen von Hämophilie eine begrenzte Reduktion der fibrinolytischen Aktivität erreichen. DE VRIES et al. (1961) vermuten eine Vermehrung von Inhibitor der Plasminogenaktivierung durch Erdnußtrakte. Nach Untersuchungen von ASTRUP et al. (1961) soll auch die Urokinase-Aktivität gehemmt werden.

Pektinähnliche antifibrinolytische Substanzen wurden von NILSSON et al. (1961 b) aus Traubenmark isoliert. Die Autoren berichten, daß in vitro besonders die Urokinase-Aktivität gehemmt werden soll.

Allen diesen Substanzen kommt bisher nur experimentelle Bedeutung zu.

4. Kombination der Urokinase mit anderen Medikamenten

a) Antikoagulantien

Da durch die Thrombolyse nur das Ergebnis, nicht aber die Ursache der intravasculären Gerinnung beseitigt wird, besteht die Gefahr einer Rethrombosierung oder der Bildung neuer Thromben in anderen Gefäßgebieten. Gewissermaßen ein natürliches Antikoagulans entsteht durch die Bildung von Antithrom-

bin VI, das DEUTSCH et al. (1960) 24 bis 48 Stunden nach der Infusion nachweisen konnten. Ist die Hypokoagulabilität am Ende der Infusion nicht ausgesprochen, so wird nach allgemeiner Ansicht eine Antikoagulantientherapie mit Heparin oder Heparinoiden angeschlossen, die später durch Dicumarolpräparate weitergeführt werden kann. Während des Thrombolyseverlaufs wird eine Heparintherapie nicht empfohlen, da der Koagulationsdefekt noch verstärkt wird; die Kombination mit einer Dicumarin-Indandiontherapie erscheint ebenfalls nicht zweckmäßig, da durch Senkung der Gerinnungsfaktoren (II, VII, IX, X), die durch die Fibrinolyse kaum angegriffen werden, eine schwer steuerbare Hypokoagulabilität auftreten kann (MARX 1962 b).

JOHNSON et al. (1963 b, 1964) setzten nach der Thrombolyse die Urokinase-Infusion für vier Stunden fort, in denen sich die traumatisierte Intima regenerieren sollte. Zusätzlich wurde für 72 Stunden Heparin in den üblichen Dosierungen gegeben. Durch dieses Vorgehen konnten Rethrombosierungen bei freiwilligen Versuchspersonen vermieden werden. Durch Heparin allein gelang es nicht, eine Thrombusreformation bei starker Plasminogenerschöpfung zu verhindern. DEUTSCH et al. (1960) schlossen an Streptokinase-Infusionen sogleich eine Marcumar-Therapie an und gaben nur dann Heparin, wenn die Antithrombinwirkung aufhörte, bevor die Marcumarwirkung einsetzte.

Auf die Frage, ob Heparin und Heparinoide die Fibrinolyse direkt oder indirekt fördern, gehen die Meinungen auseinander. Die Ansicht der Kliniker, daß Heparin die Fibrinolyse verstärkt, da Fibrinogen- und Plasmagerinnsel, die in Gegenwart von Heparin gebildet wurden, schneller gelöst werden und Thrombosen in frühen Stadien durch Heparinbehandlung ganz verschwinden, wird von HOLEMANS et al. (1963) darin begründet, daß Heparin die Gerinnselfestigkeit vermindert und Apposition und Neubildung von Thromben verhindert. Bei STAMM (1962) findet sich eine ausführliche Literaturangabe über beobachtete experimentelle und klinische Fibrinolysesteigerungen durch Heparin und Heparinoide. Der Autor selber interpretiert die beobachteten Thrombolysen durch körpereigenes Plasmin bei gehemmter Gerinnung.

MARX wies 1955 (a) in vitro eine Steigerung der Fibrinolyse durch Heparinoid (Thrombocid) nach. Er machte darauf aufmerksam, daß die Heparinwirkung auf die Fibrinolyse von Substrat und Dosis abhängig ist. Für die Begünstigung der Fibrinolyse in vivo nimmt MARX neben den genannten Faktoren eventuell noch eine indirekte Wirkung durch Freisetzung eines Aktivators an (MARX 1962 a, 1965 b).

Die Dosisabhängigkeit der Heparinwirkung auf das fibrinolytische System - speziell im Hinblick auf Urokinase - wurde von verschiedenen Autoren untersucht. v. KAULLA et al. (1958) fanden, daß Heparin an der nicht erhitzten Fibrinplatte in hohen Konzentrationen Urokinase-aktiviertes Plasmin hemmt und in niedrigen Konzentrationen die Aktivität steigert. Die Förderung der Fibrinolyse trat nur in Gegenwart von Humanalbumin auf, das wahrscheinlich einen benötigten Co-Faktor enthält. Der "Co-Faktor" als Voraussetzung für die fibrinolytische Wirkung von Heparin schon in kleinen Dosen, die noch keine gerinnungshemmende Wirkung haben, wird von HALSE (1962) als eine labile Plasmakomponente beschrieben, die im Serum nur spärlich vorhanden und mit den bisher definierten Komponenten des fibrinolytischen Systems nicht identisch ist. v. KAULLA et al. (1958) konnten keine Heparinwirkung auf die Lysis nicht erhitzter Fibrinplatten durch Urokinase allein feststellen. Heparin scheint mehr auf den Plasmin-Fibrinspiegel zu wirken als auf die Plasminogen-Aktivierung. NILSSON et al. (1964) fanden dagegen an der nicht erhitzten Rinder- und Humanfibrinplatte mit allen Heparinkonzentrationen (0, 1 bis 5 000 Einheiten Heparin pro ml) eine Verkleinerung der durch Urokinase induzierten Lysehöfe. Der Inhibitoreffekt nahm zu mit steigender Heparin- und abnehmender Urokinase-Konzentration. Die antifibrinolytische Wirkung war noch stärker auf Urokinase-aktiviertes Plasmin. In vivo konnte mit Heparin in hohen Konzentrationen ebenfalls eine hemmende Wirkung - aber hier mehr im Sinne eines Antiaktivators - festgestellt werden. Die antifibrinolytische Wirkung war nicht an die antikoagulierende gebunden. Heparinoide verhielten sich ebenso wie Heparin.

Die Ergebnisse von HOLEMANS et al. (1963) sind ähnlich. Die Autoren arbeiten neben der Fibrinplatte mit radioaktiv markierten Gerinnseln und können so feststellen, daß Heparin auf die fibrinolytische Aktivität von Urokinase an Humanplasmagerinnseln in höheren Konzentrationen hemmend einwirkt. Die spontane Lysis menschlicher Plasmagerinnsel und die fibrinolytische Aktivität von Plasmin blieben unbeeinflußt. Die Inhibitorwirkung auf die Plasminogen-Aktivierung soll ebenfalls nach diesen Autoren einen Co-Faktor benötigen, der im Zitratplasma vorhanden ist und in der Euglobulinfraktion fehlt. Übertragung der Ergebnisse in vitro auf die Verhältnisse in vivo ergibt, daß eine Hemmung der Fibrinolyse erst nach Heparindosierungen auftreten würden, die die übliche Dosierung bei Antikoagulantien-Therapie überschreiten. So kommt HOLEMANS zu dem Resultat, daß die direkte thrombolytische Aktivität in vivo durch eine Heparintherapie nie beeinflußt wird.

ALKJAERSIG et al. (1965) berichten, daß durch 25 mg Heparin vor oder

45 Minuten nach der Urokinase-Infusion die fibrinolytische Aktivität nicht verändert wurde. Durch die üblichen therapeutischen Heparinmengen konnte DUDOK DE WIT (1964) keine Beeinflussung der Antiplasmin- bzw. der Antiurokinase-Aktivität feststellen. Die endgültige Klärung der Wirkung des Heparins - einerseits als Antiaktivator und Antiplasmin, andererseits als Fibrinolyse-Aktivator - bedarf weiterer Anstrengungen.

b) Nebennierenrinden-Steroide

Über die gleichzeitige Verwendung von Nebennierenrinden-Steroiden (Prednison, Cortisol und Derivate) zusammen mit Thrombolytika bestehen noch geringe Erfahrungen. Wahrscheinlich beeinflussen sie die thrombolytische Therapie durch mehrere günstige Faktoren (SCHMUTZLER und KOLLER 1965):

1. Hemmung des durch Antithrombin VI bzw. Polymerisationshemmung bedingten Koagulationsdefektes. Der Mechanismus dieser Wirkung ist nicht geklärt (DEUTSCH 1960). Die Thrombolyse wird nicht beeinträchtigt, hämorrhagische Diathesen vermindert oder ganz verhindert (FLETCHER et al. 1959).
2. Verzögerung der Thrombusorganisation und damit Schaffung günstigerer Voraussetzungen für eine Thrombolyse.
3. Entzündungshemmende Wirkung auf Gefäßwand und perivasculäres Gewebe.
4. Milderung bzw. Aufhebung von Nebenwirkungen pyrogener und anaphylaktischer Natur, die bei Streptokinase-Therapie die Hauptindikation darstellen; entfällt bei nicht antigenen hochgereinigten Urokinase-Präparaten.

Eine prophylaktische Initialgabe der Steroidhormone ist aber nicht allgemein üblich geworden, um die fibrinolytischen Präparate besser auf ihre Pyrogenfreiheit untersuchen zu können. Außerdem ist nicht geklärt, inwieweit die Thrombosierungstendenz gefördert wird.

5. Praktische Durchführung der thrombolytischen Therapie

a) Therapieüberwachung

Bei der Durchführung einer erfolgreichen thrombolytischen Therapie mit Urokinase mit einer raschen ausgiebigen andauernden und wenig schwanken-

den lytischen Aktivität am Thrombus ergeben sich ähnliche Probleme wie bei allen Thrombolytika.

Statt der Einzelinjektion ist die kontinuierliche Infusion des Decoagulans wegen der besseren Steuerbarkeit der fibrinolytischen Aktivität vorzuziehen. Zur optimalen Aktivierung muß durch Initialdosis der Urokinase-Spiegel so hoch liegen, daß die Inhibitoren neutralisiert werden. Durch die Laborkontrollen wird die Höhe der Erhaltungsdosis bestimmt. Die Infusionen können bis zur Eröffnung des Gefäßes über viele Stunden fortgesetzt werden. (Als Tagesleistung der Thrombolyse werden 4 bis 10 cm Thrombuslänge angegeben - MARX 1965 b).

Trotz des Einwandes, daß bei arterieller Lyse nur durch lokale Applikation das Thrombolytikum in höherer Konzentration und somit mengenmäßig sparsamer an den Ort des Erfolges herangebracht werden kann, empfehlen SCHMUTZLER und KOLLER (1965) wegen der möglichen Komplikationen der Hämatombildung bei lokaler Lyse, vor allem an großkalibrigen Arterien, auf Grund vergleichender Aktivitätsuntersuchungen den einfacheren und risikoloseren Weg über das venöse System.

Die Bestimmung der Inhibitoren (Antiplasmine und Antiaktivatoren) vor Beginn der Urokinase-Infusion nach der Art des Streptokinase-Resistenztestes ist vielleicht nicht als unerläßlich anzusehen wie bei der Streptokinase-Therapie, wenn es möglich ist, auf Grund größerer Erfahrungen, die notwendige Initialdosis festzulegen.

MARX (1962 b) empfiehlt während der Therapie (Streptokinase!) folgende Kontrollen, um die induzierte Lysispotenz zu erfassen, eine hochgradige Hypokoagulabilität und die völlige Erschöpfung der Plasminogenreserven im Blut zu vermeiden:

a) Thrombelastogramm (im Venennativblut)
b) Thrombinzeit (als Maßstab für die Notwendigkeit bzw. Entbehrlichkeit einer zusätzlichen Heparin- oder Heparinoidtherapie)
c) Thrombokinasezeit (Quick-Index)
d) Euglobulinlysiszeit
e) Überprüfung des Plasminogenrestes im Plasma mit erhitzten Fibrin- und Agarplatten mit Einsatz von Euglobulinlösung ohne und mit Streptokinase-Zusatz
f) Nach der Therapie Überführung der Hyperfibrinolyse in eine gesteuerte Hypokoagulabilität durch Antikoagulantien unter Vermeidung von Therapiepausen mit potentieller Rethrombosierungstendenz.

JOHNSON et al. (1963 b) empfehlen nach erfolgter Lysis eine Fortsetzung der Urokinase-Infusion für weitere vier Stunden, verbunden mit Heparin-Therapie zur Vermeidung einer Rethrombosierung.

Ob später ein Minimum an Labortesten mit TEG, Thrombin- und Prothrombinzeit ausreichen, so daß eine Therapie mit Urokinase auch in kleineren Krankenhäusern ausgeführt werden kann, muß abgewartet werden. Zunächst dürfte es sich als nützlich erweisen, die quantitative Änderung der verschiedenen Faktoren durch die induzierte Thrombolyse möglichst vielseitig zu erfassen.

b) Kontrolle der klinischen Ergebnisse

Eine erfolgreiche oder mißglückte Lysis kann durch direkte und indirekte Untersuchungsmethoden nachgewiesen werden. Der angiographischen Vor- und Nachkontrolle kommt die Hauptbeweiskraft zu. Als indirekte Methoden kommen in Frage:

a) bei Venenthrombosen (der Extremitäten): Umfangmessungen, Hauttemperaturunterschiede, Zyanose, Temperatur-, Pulsveränderungen, Schmerzen, Bewegungseinschränkung, Palpation.
b) bei arteriellen Occlusionen: Blutdruck, Hauttemperaturmessung, Gefäßpulse, Ratschow-Lagerungsprobe, Oszillographie, eventuell Plethysmographie. Die genaue zeitliche Anamnese ist wichtig, da ein arterieller Verschluß eine viel raschere Wiedereröffnung verlangt als ein venöser wegen der zu erwartenden irreversiblen Gefäßschädigungen.

6. Indikationen und Kontraindikationen zur Thrombolyse

Wegen der geringen Erfahrung in der Thrombolyse-Therapie mit Urokinase können noch keine verbindlichen Aussagen über Indikationen und Kontraindikationen gemacht werden. Es wären etwa dieselben Indikationen gegeben wie augenblicklich in der Streptokinase-Therapie, ausgenommen sind die Kontraindikationen, die im antigenen Charakter der Streptokinase begründet sind. Urokinase kommt augenblicklich vor allem in Betracht, wenn nach einer Streptokinase-Behandlung innerhalb von 3 bis 6 Monaten eine erneute thrombolytische Therapie notwendig ist, z.B. bei rezidivierenden Occlusionen von Scribnershunts, bzw. wenn von vornherein der Streptokinase-Antikörpertiter extrem hoch liegt (HESS et al. 1966). Nach den therapeutischen

Erfolgen von AMBRUS (1963) bei idiopathischem Atemnotsyndrom scheinen auch hyaline Membranen eine echte Indikation für Urokinase zu sein.

Bei arteriellen Thrombosen der Peripherie sollte der Entscheid: Operation mit anschließender Antikoagulantien-Therapie oder Thrombolyse in Zusammenarbeit mit dem Gefäßchirurgen getroffen werden. Ist der Verschluß operabel, so ist Thrombektomie bzw. Thrombendarteriotomie das schnellste, aussichtsreichste und billigste Verfahren.

MARX (1966 a) gibt folgende Indikationen für eine Thrombolyse-Therapie mit Streptokinase oder Urokinase.

A) a) genügend gesicherte oder
b) gut belegte Indikationen:

1. a) Arterieller Verschluß von Extremitätenarterien vom Knie bzw. vom Ellenbogen an peripher.
2. a) Priapismus durch Thrombose (Frühtherapie!)
3. b) Akuter Herzinfarkt (in den ersten 3 Stunden)
4. b) Graviditätsgefährdende Beckenvenenthrombose bei Gravidität.
5. b) Partieller Retinaarterienverschluß mit Spasmus
6. b) Frischer Retinaarterienverschluß bei zilioretinaler Arterie.

B) Noch näher abzuklärende, wichtige klinische Indikationen:

1. Frische Erst-Venenthrombosen, die über die Knie hinausreichen und bei denen Venen- oder Lymphbahnklappen noch gerettet werden können (?).
2. Nierenvenenthrombose (?).
3. Nierenfibrinationen (z.B. nach überlebter Amnionintoxikation oder Blutung nach partieller Plazentalysis) (?).
4. Arteria-basilaris-Thrombose?
5. Intrakranialvenenthrombosen (?).
6. Zentralvenenthrombose? (Gefahr der Glaskörperblutung). (Relativer Nutzen durch Zusammenarbeit von Kliniken allenfalls aufzuklären).
7. Arterenolresistenter Schock bei bzw. mit intravaskulären Mikro-Koagulationen (Sanarelli-Schwartzman-Phänomene usw.).

C) Kontraindikationen der Thrombolysetherapie

1. Hämorrhagische Diathesen
(außer: manche Verbrauchskoagulopathien nach Substitutionstherapie)

2. fixierter Hochdruck ($\gtrsim$ 200 mmHg systolisch)
   ($\gtrsim$ 115 mmHg diastolisch)
3. Endocarditis lenta und andere Sepsisformen mit Kapillarschäden
4. akute Streptokokkenerkrankungen (Schockrisiko?)
5. exkressiv hohe Antistreptokinasetiter (Kostenfrage und Nebenwirkungen)
6. Lungenödem (Praeödem?)
7. Frischoperierte und Status post partum (Wundverschlußfestigkeit vermindert)
8. Wunden, Ulzera (Magen-Darm) und kurz zurückliegende Blutungen
9. 2. Streptokinase-Therapie innerhalb von 3 bzw. 6 Monaten nach der 1. Streptokinase-Therapie
10. Tuberkulose? (Lysis von Verkäsungen)

Für eine fibrinolytische Lokaltherapie wird Urokinase wegen der hohen Kosten nicht in Frage kommen. Inwieweit eine Indikation z.B. bei Hyphema besteht, bedarf weiterer Erfahrungen und vor allem der Entwicklung ökonomischer Präparate.

XIV. Vergleich der Urokinase mit anderen Fibrinolytika

1. Indirekte Fibrinolytika

Indirekte Fibrinolytika-Substanzen, die nicht im Stande sind, in vitro in die Fibrinolyse einzugreifen, sondern nur in vivo über die Freisetzung eines Aktivators wirken, sind keine geeigneten Thrombolytika.

Die wichtigsten Vertreter dieser Gruppe sind Nicotinsäure (Ronicol^{R}) und Pyrogene (Pyrexal^{R}). Wegen starker Nebenwirkungen, teilweise antigenem Charakter und schlechter Dosierbarkeit haben sich diese Substanzen nicht durchsetzen können. STAMM (1962) und v. KAULLA (1963) berichten zwar über erfolgreiche Lysen venöser Thromben und Emboli, aber im allgemeinen ist die induzierte fibrinolytische Aktivität zu schwach und hält nur kurz an.

2. Direkte Fibrinolytika

a) Streptokinase

Das derzeit verbreitetste wirksame Dekoagulans ist die Streptokinase. Es wurde schon oft auf gemeinsame bzw. gegenteilige Verhaltensweisen der Streptokinase und der Urokinase hingewiesen, die an dieser Stelle zusammengefaßt werden sollen.

Die Fibrinolyse von Humanplasma durch ein Kulturfiltrat von ß-hämolysierenden Streptokokken wurde von TILLET und GARNER 1933 entdeckt, und im Jahre 1955 konnte von TILLET, JOHNSON und MC CARTHY durch etwas gereinigtere Streptokinase-Präparate zum ersten Male im menschlichen Blut eine vorübergehende fibrinolytische Aktivität erzeugt werden. Streptokinase aktiviert Plasminogen nicht direkt wie Urokinase, sondern wirkt als Lysokinase durch Reaktion mit einem eigenständigen Proaktivator (SHERRY und ALKJAERSIG 1957; weitere Literatur bei SCHMUTZLER und KOLLER 1965). Da dieser Aktivator nicht bei allen Spezies gleichmäßig vorkommt, ist es erklärlich, daß Rinder- und Schweine-Plasminogen nahezu gar nicht aktiviert werden.

Dieser Hypothese wird eine Ein-Stufen-Reaktion gegenübergestellt, da es bisher nicht gelang, einen eigenständigen Proaktivator zu isolieren. Aus Streptokinase und Plasmin bzw. Streptokinase und Plasminogen wird - eventuell

stöchiometrisch - ein Komplex gebildet, der als Aktivator Plasminogen enzymatisch in Plasmin umwandelt (HEIMBURGER et al. 1962; GROSS et al. 1962; MC CALL und KLINE 1965).

Streptokinase ist löslich und über einen weiten pH-Bereich stabil. Das Molekulargewicht liegt ungefähr bei 45 000 (MARX 1962 a) und ist damit etwas niedriger als das der Urokinase (54 000 nach LESUK et al. 1965). Die thrombembatische Potenz konnte für Streptokinase gesichert werden (GROSS et al. 1960), was für Urokinase noch nicht gelang. Der Thrombolyse-Mechanismus als Exo- und Endothrombolyse durch Streptokinase läuft im wesentlichen genau so ab wie durch Urokinase, nachdem der Aktivator gebildet wurde. Möglicherweise werden plättchenreiche Gerinnsel durch Streptokinase besser aufgelöst, da humane Thrombozyten einen Proaktivator besitzen, der mit Streptokinase reagiert, während Urokinase-aktiviertes Plasmin durch Plättchen inhibiert werden soll (HOLEMANS und GROSS 1961 a). Die Plasmaclearance radioaktiv markierter Streptokinase ist gegenüber Urokinase verzögert - die fibrinolytische Aktivität hält nach Streptokinase-Infusionen dementsprechend länger an.

Während gleiche Urokinase-Konzentrationen im Plasma verschiedener Personen eine ziemlich einheitliche Wirkung hervorrufen, können gleiche Streptokinase-Konzentrationen in ihrer Wirkung sehr stark variieren (BLIX 1962 a). Dieses Phänomen findet seine Erklärung in den variierenden Inhibitorentitern. Während die Urokinase-Aktivität nach JOHNSON (1964) durch Inhibitoren neutralisiert werden soll, die von Individuum zu Individuum etwa um das Zweifache schwanken, wirken auf Streptokinase Inhibitoren und Immunantikörper, deren Spiegel um mehr als das 100fache variiert und außerdem im Plasma desselben Individuums sehr wechselnde Titer aufweisen kann. Die Inhibitoren von Streptokinase und Urokinase sind nicht identisch, der Streptokinase-Antikörper beeinflußt die Urokinase nicht. Der Urokinase-Inhibitor braucht nicht unbedingt stöchiometrisch neutralisiert zu werden, während bei der schwankenden Inhibitoren- und Antikörper-Menge gegen Streptokinase sich auch deren Dosierung ändern muß.

Daraus leiten sich wichtige Konsequenzen ab:
Vor einer Thrombolyse-Therapie mit Streptokinase ist eine Bestimmung des Inhibitorenspiegels unbedingt notwendig. Das bedeutet eine zeitraubende Methode mehr. Für Urokinase ist die Inhibitorbestimmung wahrscheinlich nicht unbedingt erforderlich (JOHNSON 1964).

Die Initialdosis der Streptokinase-Therapie schwankt sehr, die Berechnung der

optimalen Erhaltungsdosis ist schwierig. Häufig ist eine Änderung der Dosierung während der Therapie notwendig, denn hohe Streptokinase-Konzentrationen inaktivieren Plasmin, mit niederen wird niemals maximale Aktivierung erreicht. Es wäre daher für eine optimale Aktivierung notwendig, die Streptokinase-Konzentration für jede Plasminogen-Konzentration zu bestimmen (BERG et al. 1965). Die Initialdosis der Urokinase-Therapie liegt relativ fest. Der Plasminogenspiegel kann besser auf konstantem Niveau gehalten werden, die Dosierung braucht während der Infusion nur selten geändert zu werden. Hohe Urokinase-Konzentrationen inaktivieren Plasmin nicht (FLETCHER et al. 1965).

Nach SAWYER et al. (1960) aktiviert Streptokinase in niedrigen Konzentrationen vorzüglich das Plasminogen des Plasmas, Urokinase dagegen das Plasminogen des Thrombus. Deswegen muß die Streptokinase so hoch dosiert werden, daß zunächst eine kräftige Hyperplasminämie entsteht, wenn eine Thrombolyse erreicht werden soll. Das bedeutet, daß neben Fibrin Gerinnungsfaktoren proteolytisch gespalten werden, so daß unter Umständen schwere Blutungen auftreten können. Dem initialen Stadium der Hyperplasminamie folgt oft eine exzessive Plasminogenerschöpfung; in dieser Phase ist dann Streptokinase allein verantwortlich für die Exo- und Endolyse. Neu gebildete Gerinnsel können jetzt trotz großer Aktivatormenge wegen ihrer Plasminogenarmut schlecht lysiert werden.

Demgegenüber hat die Urokinase-Therapie den Vorteil, daß die benötigten Dosen nicht so groß sind, daß sie eine Hyperplasminämie hervorrufen. JOHNSON (1964) konnte bei der erfolgreichen Thrombolyse an Freiwilligen den Plasminogenabfall unter 20% des Normalspiegels vermeiden bei ausreichender Menge von zirkulierendem Aktivator. Blutungskomplikationen sind deshalb seltener zu erwarten.

Nach den Versuchen in vitro von DUDOK DE WIT et al. (1962) aktiviert Streptokinase das Plasma-Plasminogen zu 75% in Konzentrationen, die noch keine Fibrinolyse hervorrufen. Es entsteht mit steigender Konzentration eine wachsende Fibrinogenolyse. Urokinase dagegen soll selbst bei höherer Konzentration nicht mehr als 50% des Plasma-Plasminogen aktivieren wegen der Affinität zum Plasminogen des Gerinnsels. Es ruft eine gewisse Fibrinogenolyse hervor, die aber bei höherer und niederer Konzentration etwa das gleiche Ausmaß hat.

Streptokinase ist eine antigene Substanz, die wegen des raschen und hohen An-

stiegs des Antikörpertiters 5 bis 10 Tage nach Erstinjektion bis zu einem Maximum des 1 000fachen Ausgangswertes nach 3 bis 4 Wochen eine zweite thrombolytische Therapie vor Ablauf von 4 bis 6 Monaten kontraindiziert erscheinen läßt, um schwere anaphylaktische Reaktionen auszuschalten (GROSS et al. 1960). Nach Urokinase-Zufuhr konnte bisher kein Antikörper nachgewiesen werden. Da sie nicht durch die Antistreptokinase beeinflußt wird, kann nach Streptokinase-Behandlung eine notwendige erneute Thrombolyse mit Urokinase durchgeführt werden.

Nachdem in den Anfängen der Streptokinase-Therapie mehrmals so starke Nebenwirkungen pyrogener Art auftraten, daß Infusionen abgebrochen werden mußten, sind diese Erscheinungen durch besser gereinigte Handelspräparate (Kabikinase, Streptase) von ungefähr 40% auf 5% zurückgegangen.

Die Streptokinase-Therapie hat augenblicklich der Urokinase gegenüber den Vorteil, daß eine größere Erfahrung in der Anwendung dieser Präparate besteht. Bei venösen und arteriellen Thrombosen und bei Embolien konnten von vielen Autoren erfolgreiche Lysen eindeutig belegt werden. Zum anderen sind die Präparate im Handel besser zugänglich und nicht mit so extrem hohen Kosten belastet.

b) Plasmin-Präparate

Neben der Streptokinase sind verschiedene Plasminpräparate im Handel. Zum großen Teil handelt es sich um Streptokinase-Plasminmischpräparate, bei denen das durch Streptokinase aktivierte Humanplasminogen als Komplex erhalten geblieben ist. Bei den Präparaten "Actase" und "Thrombolysin" wurde die Streptokinase weitgehend entfernt. Da aber mit diesen Präparaten zunächst der Antiplasminspiegel des Blutes überwunden werden muß, um zu wirksamer Thrombolyse zu führen, dürfte der wirksame Plasmingehalt doch relativ gering sein und die Streptokinase-Wirkung vorherrschen. Die Thrombolyse kann durch Plasmin nur von der Thrombusoberfläche herbeigeführt werden bei Hyperplasminämie, die wieder zu einem stärkeren Abfall der Gerinnungsfaktoren mit möglichen Blutungskomplikationen führt. Außerdem haben auch Streptokinase-aktivierte Präparate antigene Eigenschaft.

AMBRUS und Mitarbeiter (1960) halten allerdings das Humanplasmin auf Grund der Hypothese eines dissoziierbaren Plasmin-Antiplasmin-Komplexes in der Gegenwart von Fibrin für das geeignetste Therapeutikum. Trypsin-

aktiviertes Plasminogen erwies sich als schwach wirksam und zeigte die meisten Nebenwirkungen. Die Autoren führen die bessere Wirksamkeit des Urokinase-Plasmin gegenüber Streptokinase-Plasmin auf eine größere Adsorptionsfähigkeit durch Fibrin zurück, nicht auf die Urokinase-Aktivität des Gemisches selber.

Durch Trypsin aktiviertes Schweineplasminogen der Firma Novo, Kopenhagen, dessen Trypsinanteil entfernt wurde, steht zur Zeit in Erprobung. Die antigene Eigenschaft soll nicht ins Gewicht fallen. Endgültiges über seinen Wert läßt sich noch nicht aussagen.

Ob Aspergillin O, ein Kulturextrakt des Pilzes Aspergillus oryzae, eine Zukunft als Thrombolytikum hat, bleibt abzuwarten. Es wird über venographisch belegte Thrombolysen bei Hunden berichtet bei mäßigem Abfall von Fibrinogen und anderer Gerinnungsfaktoren ohne antigene oder toxische Nebenwirkungen (MARIN et al. 1961).

Aus dem Vergleich mit anderen Dekoagulantien gehen die Vorteile der Urokinase als ein wirksames Mittel zur Bekämpfung thrombo-embolischer Erkrankungen in der Zukunft hervor.

XV. Schlußbetrachtung

Inwieweit entspricht nun als Fazit die Urokinase einem idealen Thrombolytikum, an das man folgende Forderungen stellen kann:

a) spezifische, genügend intensive Wirkung auf die Lysis von Gerinnseln.
b) gute Steuerbarkeit der Fibrinolyse.
c) Vermeidung von Rethrombosierungen und hämorrhagischen Diathesen.
d) Applikation mit einem Minimum an toxischen oder antigenen Nebenwirkungen.
e) konstante, reproduzierbare Wirkung im Organismus.
f) genaue Standardisierung des Präparates.
g) einfache Untersuchungsmethode für Dosierung und Verlaufskontrolle.

Die thrombolytische Aktivität der Urokinase in vivo darf als bewiesen angesehen werden. Eine spezifische Lysis von Gerinnseln ohne Wirkung auf Gerinnungsfaktoren besteht bei keinem der verwendeten Dekoagulantien, obwohl die Erfahrungen von JOHNSON (1963, 1964) darauf hinweisen, daß der Titerabfall durch Urokinase am geringsten bleibt bei optimaler Dosierung. Eine gute Steuerbarkeit der Fibrinolyse ist durch die kurze Halbwertzeit im Plasma gegeben, außerdem stehen Antidote zur Verfügung. An gereinigten Präparaten waren keine toxischen oder antigenen Eigenschaften nachweisbar. Die induzierte Wirkung im Organismus ist konstanter und reproduzierbarer als nach Streptokinase. Die Einführung der CTA-Einheit auf der Basis der Hydrolyse synthetischer Ester bedeutet den Anfang einheitlicher Standardisierung. Dosierung und Verlaufskontrolle lassen sich wahrscheinlich einfacher gestalten als bei anderen Thrombolytika.

Die Zukunft der Fibrinolysetherapie scheint bei den Plasminogen-Aktivatoren zu liegen.

Die Einführung der Urokinase in die Klinik wird entscheidend davon abhängen, ob die Produktion gesteigert und die Herstellungskosten hochkonzentrierter gereinigter Präparate gesenkt werden können. Es läßt sich dann auch an lokale fibrinolytische Therapie denken, z.B. bei Gelenksaffektionen des rheumatischen Formenkreises. HOPF und SCHMITT (1964) berichten über ermutigende Erfolge bei der Behandlung der Periarthritis humero-scapularis mit "Varidase", einem Gemisch von Streptokinase und Streptodornase. Allerdings ist noch nicht geklärt, ob durch die intraarthrikuläre Injektion nach der

Fibrinolyse nicht gemäß der Entzündungstheorie von UNGAR (1952) sekundär nachteilige Wirkungen entstehen.

Viele Probleme sind noch ungelöst. Die Genese der Urokinase, ihre Beziehung zu Blut- und Gewebsaktivatoren und damit die volle physiologische Bedeutung konnten noch nicht aufgeklärt werden. Im Zusammenhang damit muß erforscht werden, wie die veränderte Urokinase-Ausscheidung unter pathologischen Verhältnissen zu erklären ist, ob sie klinisch auswertbar ist. Essentielle Hämaturien müssen genau untersucht werden, inwieweit es sich dabei um Hyperkinasurie handeln könnte, ob eventuell durch Biopsie die Urokinase-Bildung lokalisiert werden kann.

Eine bessere Kenntnis der Inhibitoren wäre in bezug auf die Therapie von großer Bedeutung. Handelt es sich bei der Hemmung der Urokinase um einen spezifischen Wirkstoff gegen Urokinase? Inwieweit haben die Antiplasmine Wirksamkeit? Gelingt es, Inhibitoren auszuschalten?

Es ist zu prüfen, ob die Urokinase-Wirkung durch Kombination mit synthetischen Stoffen gesteigert werden kann, ob eine spezifische Lokalisation am Thrombus möglich ist.

Die Weiterentwicklung von Urokinase-Präparaten und die Sammlung klinischer Erfahrungen in ihrer Anwendung - besonders bei rezidivierenden thrombo-embolischen Gefäßleiden, bei Scribnershunts, idiopathischem Atemnotsyndrom - dürfte als dringend notwendig angesehen werden.

L i t e r a t u r

ALBRECHTSEN O.K.: The fibrinolytic agents in saline extracts of human tissues.
Scand.J.Clin. Lab. Invest. 10, 91, 1958.

ALBRECHTSEN O.K.: Fibrinolytic activity in the organism.
Acta Physiol. Scand. 47, suppl. 165, 40, 1959.

ALKJAERSIG N., FLETCHER A.P., SHERRY S.: The activation of human plasminogen. II. A kinetic study of activation with trypsin, urokinase and streptokinase.
J. Biol. Chem. 233, 86, 1958.

ALKJAERSIG N., FLETCHER A.P., SHERRY S.: The mechanism of clot dissolution by plasmin.
J. clin. Invest. 38, 1086, 1959 a.

ALKJAERSIG N., FLETCHER A.P., SHERRY S.: Epsilon-Amonocaproic acid: an inhibitor of plasminogen activitation.
J. of Biol. Chem. 234, 832, 1959 b.

ALKJAERSIG N., FLETCHER A.P., SHERRY S.: Pathogenesis of the coagulation defect developing during pathological plasma proteolytic ("fibrinolytic") states. II. The significance, mechanism and consequences of defective fibrin polymerization.
J. Clin. Invest. 41, 917, 1962.

ALKJAERSIG N., FLETCHER A.P., SHERRY S.: The assay of urokinase preparations for contamination with thromboplastic moieties.
J. Lab. Clin. Med. 65, 732, 1965.

AMBRUS C., BACK M., AMBRUS J.L.: Fibrinolytic effect of plasmin - antiplasmin complex.
Fed. Proc. 19, 58, 1960 a.

AMBRUS C., MARKUS G.: Plasmin - antiplasmin complex as a reservoir of fibrinolytic enzyme.
Amer. J. Physiol. 199, 491, 1960 b.

AMBRUS C., WEINTRAUB D.: Studies on hyaline membrane disease. I. The fibrinolysin system in pathogenesis and therapy.
Pediatrics 32, 10, 1963.

ANDERSON A.J.: Investigation of plasminogen activators using a quantitative fibrinolytic method.
Biochem. J. 83, 7p, 1962.

ANDERSSON L.: Treatment of so-called essential haematurie with fibrinolytic inhibitor (EACA).
Acta Chir. scand. 124, 155, 1962.

ANDERSSON L.: Antifibrinolytic treatment with EACA in connection with prostatectomy.
Acta chir. scand. 127, 552, 1964.

ASHWIN J., COUGHLIN W.: Fibrinolytic action of reserpine in rats.
Can. J. Physiol. Pharmacol. 42, 153, 1964.

ASTRUP T., PERMIN P.M.: Fibrinolysis in the animal organism.
Nature 159, 681, 1947.

ASTRUP T.: Fibrinolysis.
Acta. Haemat. 7, 271, 1952.

ASTRUP T., MÜLLERTZ S.: The fibrin plate method for estimating fibrinolytic activity.
Arch. Biochem. Biophys. 40, 346, 1952.

ASTRUP T., STERNDORFF I.: An activator of plasminogen in normal urine.
Proc. Soc. Biol. Med. 81, 675, 1952.

ASTRUP T., STERNDORFF I.: The plasminogen activator in the urine and the urinary trypsin inhibitor.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 8, 239, 1955.

ASTRUP T., STERNDORFF I.: Fibrinolysokinase activity in animal and human tissue.
Acta phys. scand. 37, 40, 1956.

ASTRUP T., ALBRECHTSEN O.K.: Estimation of the plasminogen activator and the trypsin inhibitor in animal and human tissues.
Scand. J. clin. Lab. Invest. 9, 233, 1957.

ASTRUP T., BRAKMAN P., OLLENDORFF P., RASMUSSEN J.: Hemostasis in haemophilia in relation to the hemostatic balance in the normal organism and the effect of peanuts.
Thrombos. Diathes. Haemorrh. 5, 329, 1961.

ASTRUP T., EGEBLAD K.: Thrombelastographic pattern produced by fibrinolytic agents incorporated in fibrin.
Amer. J. Physiol. 209, 84, 1965.

BACK N., AMBRUS J .L., SIMPSON C.L., SHULMAN S.: Study on the effect of streptokinase-activated plasmin (fibrinolysin) in clots in various stages of organization. J. clin. Invest. 37, 864, 1958.

BACK N., AMBRUS J.L., MINK I.: Distribution and fate of J^{131}-labeled components of the fibrinolysin system. Circulat. Res. 9, 1208, 1961.

BACK N., AMBRUS J.L., HIRAMOTO R.: Immunohistochemical study of thrombolytic mechanisms. Blood 25, 1028, 1965.

BARON S., BARNETT E.: An activator of plasminogen produced by cell culture. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 102, 308, 1959.

BARON S., BARNETT E.: Activator of plasminogen and protease from various cell cultures and present in poliomyelitis vaccine. Proc. Soc. Exp.Biol.Med. 103, 527, 1960.

BAUMGARTEN W., PRIESTER L.J., HERZOG S.A., WATSON L.: Evaluation of the fibrinolytic state after administration of Urokinase. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 115, 1120, 1964.

BECK E., SCHMUTZLER R., DUCKERT F.: Inhibition of fibrinolysis and fibrinogenolysis in man: comparison of epsilon-aminocaproic acid and kallikrein inhibitor. Thrombos. Diathes. Haemorrh. 10, 106, 1963.

BENDERSKY J.: Über die Ausscheidung der Verdauungsfermente aus dem Organismus bei gesunden und kranken Menschen. Virchows Arch. Path. Anat. u. Physiol. 121, 554, 1890; zitiert nach BERGSTRÖM 1964.

BERG W., KORSAN-BENGTSEN K., YGGE Y.: Plasminogen assay by means of the lysis time method. Thrombos. Diathes. Haemorrh. 14, 127, 1965.

BERGSTRÖM K.: A preparative method for the purification of human urokinase. Arkiv for Kemi 21, 535, 1964.

BIERSTEDT P., BORK F.: Über die Wirkung von Magnesiumsalzen auf Fibrinolyse und Blutgerinnung in vivo. Ztschr. inn. Med. 12, 700, 1957.

BJERREHUS I.: Fibrinolytic activity of urine.
Scand. J. Clin. Lab. invest. 4, 179, 1952.

BLATT W.F., SEGAL H., GRAY J.L.: Purification of streptokinase and human plasmin and their interaction.
Thrombos. Diathes. Haemorrh. 11, 393, 1964.

BLIX S.: Some problems related to fibrinolytic therapy estimated in a preformed clot system.
V. Hamburger Symposion. Thrombos. Diathes. Haemorrh. 7, suppl. 3, 51, 1962 a.

BLIX S.: The effectivness of activators in clot lysis with special reference to fibrinolytic therapy.
Acta med. scand. 172, 386p, 1962 b.

BLIX S.: The quantitative determination of fibrinolytic inhibitors in plasma or serum by means of the fibrin plate.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 16, 403, 1964 a.

BLIX S.: The euglobulinmethod for the estimation of fibrinolytic activity in urokinase-activated plasma and the influence of Trasylol.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 16, 198, 1964 b.

BLOFIELD A.: A spontaneously active fibrinolytic system in Xenopus laevis which is further activated by human urokinase.
Nature 206, 736, 1965.

BOCCARDI V.: L'attività fibrinolitica dei leucociti.
Boll. Soc. It. Ematol. 12, 43, 1964;
zitiert nach DETTORI und PONARI 1964.

BOISVERT P.L.: The streptococcal antifibrinolysin test in clinical use.
J. clin. Invest. 19, 65, 1940.

BRAKMAN P., SJOLIN, ASTRUP T.: Is there a hemostatic effect of peanuts in hemophiloid disorders?
Thrombos. Diathes. Haemorrh. 8, 442, 1962.

BRAKMAN P., ASTRUP T.: Selective inhibition in human pregnancy blood of urokinase induced fibrinolysis.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 15, 603, 1963.

BRINKHAUS K.M.: Thrombolysis and thrombolytic agents.
Amer. J. Med. Associat. 175, 284, 1961.

BRÜCKE E.: Sitzungsberichte des Math.-naturwissenschaftl. Cl. der Akademie der Wissenschaften (Wien)
Abtl. 2, 43, 601, 1861;
zit. nach BERGSTROM 1964.

BULUK K., FURMAN M.: On the controlling function of the kidneys in fibrinolysis.
Experentia 18, 146, 1962.

BULUK K., MALOFIEJEW M.: Acta physiol. pol. 14, 371, 1963;
zit. nach WOROWSKI et al. 1964.

CELANDER D.R., GUEST M.M.: Purification and properties of an urinary activator of plasma profibrinolysin.
Fed. Proc. 14, 26, 1955 a.

CELANDER D.R., LANGLINAIS R.P., GUEST M.M.: The application of foam technique to the partial purification of a urine activator of plasma profibrinolysin.
Arch. Biochem. Biophys. 55, 286, 1955 b.

CELANDER D.R., GUEST M.M.: The biochemistry and physiology of urokinase.
Amer. J. Cardiol. 6, 409, 1960.

CELANDER D.R., VIGORITO T., GALL M., GORDON G.A.: In vivo distribution of radioaktive urokinase.
J. Amer. osteopath. Ass. 64, 947, 1965.

CHAKRABATI R., BIRKS P.M., FEARNLEY G.P.: Origin of blood fibrinolytic activity from veins and its bearing on the fate of venous thrombi.
Lancet 1, 1288, 1963.

CHO M.H., CHO W.: Induction of increased fibrinolytic activity in plasma by various drugs.
Thrombos. Diathes. Haemorrh. 11, 372, 1964.

COLGAN J., GATES E., MILLER L.: Serum and urinary fibrinolytic activity related to the haemorrhagic diathesis in irradiated dogs.
J. exper. Med. 95, 531, 1952.

DAVIES M.C., ENGLERT M.E.: Physical properties of highly purified human plasminogen.
J. Biol. Chem. 235, 1011, 1960.

DE BARBIERI A., SCEVOLA M.E.: zitiert nach DETTORI und PONARI 1963.

DETTORI A.G., PONARI O.: La fibrinolisi.
Fisiopatologia et clinica. Minerva Medica, Turin 1964.

DEUTSCH E., ELSNER P., FISCHER M.: Medikamentös induzierte Fibrinolyse.
Wiener Zschr. inn. Med. 41, 457, 1960.

DE VRIES, BRAAT van STRAATEN, MÜLLER, WETTERMARK: Antiplasmin deficiency in polycythaemie: a form of thrombopathy.
Thrombos. Diathes. Haemorrh. 6, 445, 1961.

DILLARD G.H.: The trypsin inhibitor of the urine in health and disease.
J. Lab. Clin. Med. 36, 266, 1950.

DOLESCHEL W., AUERSWALD W.: Physico-chemische Untersuchungen an humaner Urokinase mit besonderer Berücksichtigung ihres Verhaltens gegenüber Adsorbenzien.
Wiener Ztschr.f. innere Med. 41, 49, 1960.

DUDOK DE WIT CH., OTTOLANDER G., KRIJNEN H.: The measurement of fibrinolytic activity with J^{131}-labeled clots.
II. Application.
Thrombos.Diathes. Haemorrh. 8, 322, 1962.

DUDOK DE WIT CH.: Investigations on the inhibitors of the fibrinolytic system.
Thrombos. Diathes. Haemorrh. 12, 105, 1964.

EDWARD N., YOUNG D.P., MC LEOD M.: Fibrinolytic activity in plasma and urine in chronic renal disease.
J. clin. Path. 17, 365, 1964.

FEARNLEY G.R., FERGUSON J.: Arteriovenous difference in natural fibrinolysis.
Lancet 2, 1040, 1957.

FISCHBACHER W.: Beitrag zur Fibrinolyse.
Inaug.-Diss. Zürich 1960;
zitiert nach MARX 1965 b.

FLETCHER A.P.: The preparation of partially purified plasmin, and an account of its intrathecal use in patients.
J.Clin. Invest. 33, 1242, 1954.

FLETCHER A.P., ALKYAERSIG N., SHERRY S.: The maintenance of a sustained thrombolytic state in man. I. Induction and effects.
J. Clin. Invest. 38, 1096, 1959.

FLETCHER A.P., ALKJAERSIG N., SHERRY S.: Fibrinolytic mechanisms and the development of thrombolytic therapy.
Amer. J. Med. 33, 738, 1962 a.

FLETCHER A.P., ALKJAERSIG N. SHERRY S.: Influence of clot dissolution on thrombolysis in plasma.
Fed. Proc. 21, 63, 1962 b.

FLETCHER A.P., ALKJAERSIG N. SHERRY S.: Maintenance of a sustained thrombolytic state in man by intravenous infusion of urokinase.
J. Lab. Clin. Med. 64, 857, 1964.

FLETCHER A.P., ALKJAERSIG N., SHERRY S.: The development of urokinase as a thrombolytic agent. Maintenance of a sustained thrombolytic state in man by its intravenous infusion.
J. Lab. Clin. Med. 65, 713, 1965.

FONIO A.: Neuere Untersuchungen über die physiologischen fibrinolytischen Vorgänge in vivo.
Schweiz.Med. Wschr. 90, 1243, 1960.

FONIO A.: Über die Kontrolle der Wirkung fibrinolytischer Präparate.
Thrombos. Diathes. Haemorrh. 6, 339, 1961.

GORMSEN J.: Fibrinolytic activity. Inhibition of plasminogen activation.
Acta Med. Scand. 172, 657, 1962.

GROSS R., HARTL W., KLOSS G ., RAHN R.: Thrombolyse durch Infusion hochgereinigter Streptokinase.
Dtsch. med. Wschr. 85, 2129, 1960.

GROSS R., LECHLER E.: Weitere Untersuchungen über den Plättchenproaktivator der Fibrinolyse.
Klin.Wschr. 40, 818, 1962.

GRÜTZNER P.: Über die Fermente im Harn.
Breslauer Ärztl. Zeitschrift 4, 193, 1882;
zit. nach BERGSTRÖM 1964.

GUEST M.: Profibrinolysin, antifibrinolysin, fibrinogen and urine fibrinolytic factors in the human subject.
J. Clin. Invest. 33, 1553, 1954.

GUEST M.M., CELANDER D.R.: Urokinase - physiological activator of profibrinolysin.
Tex. Rep. Biol. Med. 19, 89, 1961.

HAAN D., TILSNER V.: Fibrinolyse-Therapie von Thrombosen und Embolien.
Münch. Med. Wschr. 107, 638, 1965.

HALSE T.: Aktivierung der Fibrinolyse und Thrombolyse durch Polysaccharidschwefelsäureester (Heparin, Heparinoide).
Arzneimittelforschung 12, 574, 1962.

HANSEN P.F., JÖRGENSEN M., KJELDGAARD N.O., PLOUG J.: Urokinase - an activator of plasminogen from human urine.
Angiology 12, 367, 1961.

HEDIN S.G.: Hoppe - Seyler's Zeitschr. Phys. Chemie 112, 252, 1921; zitiert nach BERGSTRÖM 1964.

HEIMBURGER N., SCHWICK G.: Die Fibrinagar-Elektrophorese.
2. Mitteilung: Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus der Streptokinase.
Thrombos. Diathes. Haemorrh. 7, 444, 1962.

HENRY R.L.: Leukocytes and thrombosis.
Thrombos. Diathes. Haemorrh. 13, 35, 1965.

HESS H., GOOSSENS N., FORST H.: Behandlung rezidivierender Embolien in Extremitätenarterien mit Streptokinase und Urokinase.
Fortschr. Med. 84, 296, 1966.

HOLEMANS R., GROSS R.: Influence of blood platelets on fibrinolysis.
Thrombos. Diathes. Haemorrh. 6, 196, 1961 a.

HOLEMANS R., GROSS R.: Fibrinolytic activities present in human blood platelets.
Nature 189, 238, 1961 b.

HOLEMANS R.: Increase in fibrinolytic activity by venous occlusion.. J. Applied Phys. 18, 1123, 1963.

HOLEMANS R., ADAMIS D., HORACE J.F.: Interaction of heparin with fibrinolysis.
Thrombos. Diathes. Haemorrh. 9, 446, 1963.

HOLEMANS R., MC CONNELL D.: Urokinase levels in urine after injection of nicotinic acid.
Clin. Res. 13, 36, 1964.

HOLEMANS R., MC CONNELL D., JOHNSTON J.G.: Urokinase levels in urine after nicotinic acid injection.
Thrombos. Diathes. Haemorrh. 15, 192, 1966.

HOPF A., SCHMITT H.W.: Zur Behandlung der Periarthritis humero-scapularis mit fibrinolytischen Medikamenten.
Dtsch. med. Wschr. 89, 1691, 1964.

HÖRVEN I., OPSAHL R.: Fibrinolysis and hyphema. The effect of urokinase on clotted blood in the anterior chamber of rabbit eyes.
Acta ophthalmologica 42, 957, 1964.

HUME M.: Thrombolysis of the experimental radioactive pulmonary embolus. Its demonstration with the use of serval agents.
New Engl. J. Med. 264, 471, 1961.

JOHANSSON F.: Hoppe - Seyler's Zeitschr. Phys. Chemie 85, 72, 1913; zitiert nach BERGSTRÖM 1964.

JOHNSON A.J., MC CARTHY R., ROSS W.: The lysis of artificially induced intravascular clots in man by intravenous infusions of streptokinase.
J. Clin. Invest. 38, 1627, 1959.

JOHNSON A.J.: Characterization and significance of inhibitors controlling the activation of fibrinolysis in man.
J. Clin. Invest. 39, 1001, 1960.

JOHNSON A.J., MC CARTHY R., NEWMAN J.: The lysis of artificially induced intravascular clots in man by intravenous infusions of urokinase.
J. Clin. Invest. 42, 945, 1963 a.

JOHNSON A.J., MC CARTHY R., NEWMAN J., LACHNER J.: Thrombolysis in man with urokinase.
Blood 22, 828, 1963 b.

JOHNSON A.J.: Present status of thrombolytic therapy.
Amer. Heart. J. 67, 418, 1964.

JOHNSON A.J., MC CARTHY R.: The lysis of artificially induced intravacular clots in man by intravenous infusions of urokinase.
J. Clin. Invest. 43, 1265, 1964.

JOHNSON S.A., SCHNEIDER C.L.: The existence of antifibrinolysin activity in platelets.
Science 117, 229, 1953.

KAULLA v. K.N.: Rolle des Aktivators beim Abbau menschlicher Fibringerinnsel. Erste Ergebnisse mit einer neuen Einheitstechnik.
Klin. Wschr. 38, 288, 1960.

KAULLA v. K.N.: Urin adsorbate with fibrinolytic and thromboplastic properties.
J. Lab. Clin. Med. 44, 944, 1954.

KAULLA v. K.N.: Extraction and concentration of thromboplastic material from human urine.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 91, 543, 1956.

KAULLA v. K.N., MC DONALD T.S.: The effect of heparin on components of the human fibrinolytic system.
Blood 13, 811, 1958.

KAULLA v. K.N.: Urokinase - induced fibrinolysis of human standard clots.
Nature 184, 1320, 1959.

KAULLA v. K.N., RIGGENBACH N.: Urokinase-excretion in man. A method of determination and consideration of its significance.
Thrombos. Diathes. Haemorrh. 5, 162, 1961.

KAULLA v. K.N.: Urea derivates as fibrinolysis promoting agents.
Proc. Soc. exp. Biol. et Med. 106, 530, 1961.

KAULLA v. K.N.: Chemistry of thrombolysis: human fibrinolytic enzymes.
Charles C. Thomas Publisher, Springfield/Illinois/USA 1963

KELLER W., WISKOTT A.: Lehrbuch der Kinderheilkunde.
G. Thieme, Stuttgart, 2. Aufl. 1965, p. 122 u. 134.

KICKHÖFEN, STRUWE, WESTPHAL, BRENNESFIELD: Über einige Beobachtungen am Uropepsinogen und am Plasminogen-Aktivator des menschlichen Urins.
Biochem. Ztschr. 330, 467, 1958.

KJELDGAARD N., PLOUG J.: Urokinase - an activator of plasminogen from human urine. II. Mechanism of plasminogen activation.
Biochem. et biophys. Acta 24, 283, 1957.

KLINE D.L.: Purification and crystallization of plasminogen (profibrinolysin).
J. Biol. Chem. 204, 949, 1953.

KOLMEN S.N., GUEST M., CELANDER D.R.: Evidence for the adsorption upon erythrocytes of urokinase and other components of the fibrinolytic systems.
Arch. Biochem. Biophys. 85, 334, 1959.

KOTSCHY M., JACOBSEN C.D.: Slight influence of erythrocytes and hemolysate on fibrinolysis in vitro.
Scand. J. clin. Lab. Invest. 16, 55, 1964.

KOWALSKI E., KOPÉC M., LATALLO Z., ROSZKOWSKI S., SENDYS N.: On the occurrence of a plasminogen-like substance in human tissue.
Blood 8, 436, 1958.

KUNITZ M., NORTHROP J.H.: Isolation from beef pancreas of crystalline trypsinogen, trypsin, of a trypsin inhibitor and an inhibitor trypsin compound.
J. Gen. Physiol. 19, 991, 1936.

KÜNTZER W., STRÖDER J.: Gerinnungsfaktoren an Kindern. XIV. Profibrinolysin und Antifibrinolysin bei Unreifgeborenen.
Ann. Pediatr. 197, 9, 1961.

LACK CH., ALI S.: Tissue activator of plasminogen.
Nature 201, 1031, 1964.

LADEHOFF A.: The content of plasminogen-activator in the human urinary tract.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 12, 136, 1960.

LADEHOFF A., RASMUSSEN J.: Fibrinolysis and thromboplastic activity in relation to hemorrhage in transvesical prostatectomie. Scand. J. Clin. Invest. 13, 213, 1961.

LADEHOFF A., OTTE E.: Inhibitory effect of epsilon aminocaproic-acid on fibrinolytic activity and bleeding in transvesical prostatectomy. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 15, 239, 1963.

LARRIEU M.J.: Plaquettes et fibrinolyse. Identité entre la pro-activateur plaquettaire et plasmatique. Nouv.Rev.franc. d'Hématol. 5, 261, 1965.

LATALLO A., BUDZYNSKI Z., LIPINSKI B., KOWALSKI E.: Studies on fibrinogen digestion products. IX. Congr. Soc. Europ.hematol. Lissabon 1963.

LESUK A., TERMINELLO L., TRAVER J.H.: Crystalline human Urokinase, some properties. Science 147, 880, 1965.

LEWIS J.H., FERGUSON J.H.: Studies on a proteolytic enzyme system of the blood. IV. Activation of profibrinolysin by serum fibrinolysokinase. Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 78, 184, 1951.

LIEBERMANN J., KELLOG F.: A deficiency of pulmonary fibrinolysis in hyaline-membrane disease. New.Engl.J.Med. 262, 999, 1960.

LIEBERMANN J.: A unified concept and critical review of pulmonary hyaline membrane formation. Am.J.Med. 35, 443, 1963.

LIPPARD V.W., WHEELER G.W.: Beta-hemolytic streptococcic infection in infancy and childhood. III. Placental transmission of antifibrinolysin and antistreptolysin. Amer.J.Dis.Child. 52, 61, 1936.

LIPPSCHÜTZ E.J., AMBRUS J.L., AMBRUS C.M., CONSTANT J.: Controlled study of the treatment of coronary occlusion with urokinase-activated human plasmin. Amer. J. Cardiol. 16, 93, 1965.

LOHMANN S., MARKWARDT F., LANDMANN H.: Über neue Hemmstoffe der Fibrinolyse. Naturwissenschaften 50, 502, 1963.

LORAND L., MOZEN M.: Ester-hydrolysing activity of urokinase preparations.
Nature 201, 392, 1964.

LUDWIG H.: Thrombolyse durch Streptokinase.
Dtsche. med. Wschr. 23, 1105, 1964.

MC CALL O.C., KLINE D.L.: Mechanism of action and some properties of a tissue activator of plasminogen.
Thrombos. Diathes. Haemorrh. 14, 116, 1965.

MC FARLANE R., PILLING J.: Fibrinolytic activity of normal urine.
Nature 159, 779, 1947.

MC NICOL G.P., FLETCHER A.P.: Impairment of hemostasis in the urinary tract. The role of urokinase.
J. Lab. Clin. Med. 58, 34, 1961 a.

MC NICOL G.P., FLETCHER A.P., ALKJAERSIG N., SHERRY S.: The use of EACA, a potent inhibitor of fibrinolytic activity in the management of postoperative hematurie.
J. of Urol. 86, 829, 1961 b.

MC NICOL G.P., FLETCHER A.P., ALKJAERSIG N., SHERRY S.: The adsorption, distribution and excretion of EACA following oral or intravenous administration in man.
J. Lab. Clin. Med. 59, 15, 1962.

MC NICOL G.P., GALE S.: In vitro and in vivo study of a preparation of urokinase.
Brit. Med. J. 1, 909, 1963.

MC NICOL G.P., DOUGLAS A.S.: Urokinase and non-enymatic fibrinolytic agents.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 14, suppl. 78, 33, 1964.

MARIN H.M., STEFANINI M., SOARDI F., MUELLER L.: Fibrinolysis V. The thrombolytic and anticoagulant activity of mold fibrinolysin (Aspergillus O) in vivo.
J. Lab. Clin. Med. 58, 47, 1961.

MARKWARDT F., KLÖCKING H.P., RICHTER: Die Kombinationswirkung von Fibrinolysehemmstoffen.
Acta biol. med. Germanica 12, 522, 1964.

MARX R.: Hämostaseologie.
Habilitationsschrift, München 1953.

MARX R.: Neuere Ergebnisse über die Bedingtheit der Fibrinolyse im Serum in vitro.
I. Internationale Tagung über Thrombosen und Embolie. Basel, 1954
Verlag Benno Schwabe & Co., Basel, p. 108.

MARX R.: Über einige Ergebnisse und Probleme klinisch-enzymologischer Fibrinolysestudien.
Blut 1, 275, 1955 a.

MARX R.: Zur Behandlung der Herzthrombosen mit Antikoagulantien.
Dtsch. med. Wschr. 80, 443, 1955 b.

MARX R., WERLE E., APPEL W.: Zum Problem eines Antidotes in der internen Thrombotherapie mit Fibrinolytica.
Blut 5, 367, 1959.

MARX R.: Wirkungsweise der Fibrinolytica und Antifibrinolytica.
V. Hamburger Symposion über Blutgerinnung.
Schattauer Verlag Stuttgart 1962 a.

MARX R.: Antithrombotische Therapie mit "direkten Fibrinolytica".
Fortschr. Med. 80, 301, 1962 b.

MARX R.: Prinzip und Wirkungsweise der medikamentösen Thrombolyse.
Verhandl. der Deutschen Gesellsch. f. Kreislaufforschung, 31. Tagung, p. 354, 1965 a.

MARX R.: Zur Therapie der peripheren Durchblutungsstörungen mit Antikoagulantien und Thrombolytika.
Internist 6, 235, 1965 b.

MARX R.: Blutstillung mit Fibrinolyseinhibitoren.
Münch. med. Wschr. 23, 1267, 1966.

MARX R.: Schäden durch Antikoagulantia und Thrombolytika.
Ärztl. Praxis 18, 2806, 1966.

MERSKEY C., JOHNSON A.J., PERT J.H., WOHL H.: Pathogenesis of fibrinolysis in defibrination syndrome: effect of heparin administration.
Blood 24, 701, 1964.

MOHLER S.R., CELANDER D.R., GUEST M.: Distribution of urokinase among the common mammals.
Amer. J. Physiol. 192, 186, 1958.

MORIAU M., DE VRIES S.J., DIK H.J.: Les inhibiteurs de la fibrinolyse et la dosage de l'activité antiplasminique physiologique et pathologique.
Thrombos. Diathes. Haemorrh. 10, 355, 1964.

MÜLLERTZ S.: A plasminogen activator in spontaneously active human blood.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 82, 291, 1953.

MÜLLERTZ S.: Formation and properties of the activator of plasminogen and of human and bovine plasmin.
Biochem. J. 61, 424, 1955.

NAIMI S., GOLDSTEIN R., PROGER S.: Studies of coagulation and fibrinolysis of the arterial and venous blood in normal subjects and in patients with atherosclerosis.
Circulation 27, 904, 1963.

NIEWIAROWSKI S., KOWALSKI E.: Un nouvel anticoagulant derivé du fibrinogène.
Rev. Hémat. 13, 320, 1958.

NIEWIAROWSKI S., LATALLO Z.: Comparative studies of the fibrinolytic system of sera of various vertebrates.
Thrombos. Diathes. Haemorrh. 4, 407, 1959.

NIEWIAROWSKI S., PROKOPOWICZ J., POPUAWSKI A., WOROWSKI K.: Inhibition of dog fibrinolytic system in experimental tubular necrosis of kidney.
Experentia 20, 101, 1964.

NILSSON I.M., KROOK H., STERNBY N.H., SOEDERBERG E., SÖDERSTRÖM N.: Severe thrombotic disease in a young man with bone marrow and skeletal changes and with a high content of an inhibitor in the fibrinolytic system.
Acta Med. Scand. 169, 323, 1961 a.

NILSSON I.M., BJÖRKMAN S.E., v. STUDNITZ W., HALLEN A.: Anti-fibrinolytic activity of certain pectins.
Thrombos. Diathes. Haemorrh. 6, 177, 1961 b.

NILSSON I.M., BJÖRKMAN S.E., ANDERSSON L.: Clinical experiences with epsilon aminocaproic acid as an antifibrinolytic agent. Acta med. Scand. 170, 487, 1961 c.

NILSSON I.M., BIELAWIEC M., BJÖRKMAN S.E.: The effect of heparin on fibrinolytic activators and plasmin. Scand. J. Haematol. 1, 75, 1964.

NORMAN P.S.: Studies of the plasmin system. II. Inhibition of Plasmin by serum or plasma. J. exper. Med. 108, 53, 1958.

OLESEN E.S.: Effect of betonite on fibrinolytic system in serum. Thrombos. Diathes. Haemorrh. 10, 120, 1963.

OKAMOTO S., NAKAJIMA T., OKAMOTO U.: A suppressing effect of epsilon-aminocaproic acid on the bleeding of dogs, produced with the activation of plasmin in the circulatory blood. Keio J. Med. 8, 247, 1959.

OKAMOTO S.: AMCHA, a new potent inhibitor of the fibrinolysis. Keio J. Med. 11, 105, 1962.

OKAMOTO U., TAKADA Y.: KCl-extracted plasminogen activator in kidney of rabbits. Keio J. Med. 13, 107, 1964.

OSWALD K., MATIS P.: Zur Förderung der intra- und postoperativen Blutstillung durch epsilon-amino-Capronsäure. Vergleichende Untersuchungen nach Elektroresektion. der Prostata. Med. Welt 1964, p 963.

PAINTER R., CHARLES A.: Characterization of a soluble plasminogen activator from kidney cell cultures. Amer. J. Physiol. 202, 1125, 1962.

PARASKEVAS M., NILSSON I.M., MARTINSSON G.: A method for determing serum inhibitors of plasminogen activation. Scand. J. Clin. & Lab. Invest. 14, 138, 1962.

PHILLIPS L.L., SKRODELIS V., FUREY C.A.: The fibrinolytic enzyme system in prostatic cancer. Cancer 12, 721, 1959.

PIERSE D., HYLTON L.: The use of urokinase in the anterior chamber of the eye.
J. Clin. Path. 17, 362, 1962.

PIERSE D., LE GRICE H.: Urokinase in ophtalmology.
Lancet 2, 1143, 1963.

PIPER W., BUCHBERGER A.G., SIMON S., KRÜGER J.: Fibrinolyse und antifibrinolytische Therapie bei urologischen Operationen.
Medizin. Welt 8, 385, 1965.

PLOUG J., KJELDGAARD N.: Urokinase - an activator of plasminogen from human urine. I. Isolation and properties.
Biochem. et biophys. Acta 24, 278, 1957.

PROKOPOWICZ J., REJNIAK L., NIEWIAROWSKI S., WOROWSKI K.: Fibrinolytic activity of tissue sections of the dog kidney.
Thrombos. Diathes. Haemorrh. 12, 396, 1964.

QUIE P.G., WANNAMAKER W.L.: The plasminogen - plasmin system of newborn infants.
Amer. J. Dis. Childr. 100, 836, 1960.

RAAB W.: Die Urokinase des Meerschweinchens.
Experentia 20, 546, 1964.

REID W., SILVER M.: Activation of the blood fibrinolytic enzyme system by platelets.
Amer. J. Physiol. 206, 1255, 1964.

RIDDLE J.M., BARHART M.J.: The eosinophil as a source of profibrinolysin in acute inflammation.
Blood 25, 776, 1965.

RIGGENBACH N., v. KAULLA K.N.: Urokinase excretion in patients with carcinoma.
Cancer 14, 889, 1961.

ROBBERTS J.T.: Localization of plasminogen activator in neonatal lung in the presence of hyaline membrane disease.
J. clin. Path. 18, 586, 1965.

ROBBINS K.C., SUMMARIA L., HSIEH B.T., LING C.M.: Studies on the mechanism of activation of human plasminogen by urokinase.
Thrombos. Diathes. Haemorrh. 13, 586, 1965.

ROSCHLAU W.H., PAINTER R.H.: Human fibrinolysin with and without urokinase: its effect on experimental arterial thrombi in dogs.
Canad. J. Biochem. Physiol. 40, 1819, 1962.

RUEGGSEGER P. 1960;
zit. nach SCHMUTZLER und KOLLER 1965.

SAHLI W.: Über das Vorkommen von Pepsin und Trypsin im normalen menschlichen Urin.
Pflügers Arch. 36, 209, 1885;
zit. nach BERGSTRÖM 1964.

SAWYER W.D., ALKJAERSIG N., FLETCHER A.P., SHERRY S.: Qualitative differences between the action of various plasminogen activators on human plasma and on fibrin clots.
Fed. Proc. 19, 57, 1960.

SAWYER W.D., ALKJAERSIG N., FLETCHER A.P.: A comparison of the fibrinolytic and fibrigenolytic effects of the plasminogen activators.
Thrombos. Diathes. Haemorrh. 5, 49, 1961.

SCHMITZ A.: Über die Proteinase des Fibrins.
Ztschr. phys. Chem. 224, 89, 1936.

SCHMUTZLER R., KOLLER F.: Die Thrombolysetherapie.
Ergeb. d. Inn. Med. Bd. 22, 1965.

SCHMUTZLER R., FÜRSTENBERG H.: Fibrinolyse und Blutverlust nach Prostata-Operationen und deren Beeinflußbarkeit durch Anti-fibrinolytika.
Dtsch. Med. Wschr. 91, 297, 1966.

SEEGERS W.-H., LANDABURU R.H., JOHNSON J.F.: Thrombin E as a fibrinolytic enzyme.
Science 131, 126, 1960.

SGOURIS J.T., IMMAN T., MC CALL K.B.: The preparation of human urokinase.
Amer. J. Cardiol. 6, 406, 1960.

SGOURIS J.T., STOREY R.W., MC CALL K.B., ANDERSON H.: The purification, assay, sterilization and removal of pyrogenicity of human urokinase.
Vox Sang. 7, 739, 1962.

SHERRY S., ALKJAERSIG N.: Studies on the activation of human plasminogen.
J.Clin.Invest. 35, 735, 1956.

SHERRY S., ALKJAERSIG N.: Studies on the fibrinolytic enzyme of human plasma.
Thrombos.Diathes.Haemorrh. 1, 264, 1957.

SHERRY S., FLETCHER A.P., ALKJAERSIG N.: Fibrinolysis and fibrinolytic activity in man.
Phys.Reviews 39, 343, 1959.

SHERRY S., ALKJAERSIG N., FLETCHER A.P.: Assay of urokinase preparations with the synthetic substrate acethyl-l-lysine methylester (ALMe).
J.Lab.Clin.Med. 64, 145, 1964.

SHERRY S., ALKJAERSIG N., FLETCHER A.P.: Comparative activity of thrombin on substituted arginine and lysine esters.
Amer.J.Physiol. 209, 577, 1965.

SHULMAN R.: A proteolytic inhibitor with anticoagulant activity separated from human urine and plasma.
J.biol.Chem. 213, 655, 1955.

SHULMAN S.: Biophysical studies of plasminogen and its activators.
Conference on thrombolytic agents.
U.S.P.H.S. Chicago 1960.

SINAKOS, LARRIEU M.J.: Leucocytes et fibrinolyse.
Nouv.Rev.Franc. d'Hématol. 5, 43, 1965.

SLOTTA K.H., GONZALES J.D.: Native plasminogen.
Biochemistry 3, 285, 1964 a.

SLOTTA K.H., GONZALES J.D.: Fractination of plasminogen by starch gel electrophoresis.
Thrombos.Diathes.Haemorrh. 12, 126, 1964 b.

SMYRNIOTS F.E., FLETCHER A.P., ALKJAERSIG N., SHERRY S.: Urokinase excretion in health and its alteration in certain disease states.
Thrombos. Diathes. Haemorrh. 3, 257, 1959.

SOBEL G., MOHLER R., GUEST M.: Urokinase: an activator of plasma profibrinolysin extracted from urine.
Amer. J. Physiol. 171, 768, 1952.

SOKAL J., AMBRUS J., AMBRUS C.: Treatment of thrombosis with plasmin.
J. Amer. Med. Ass. 168, 1314, 1958.

SOULIER J.P., PROU-WARTELLE O., DERMONT J.: Etude de divers inhibiteurs d'enzymes protéolytiques sur la coagulation et la fibrinolyse.
Revue Hémat. 15, 431, 1960.

STAMM H.: Einführung in die Klinik der Fibrinolyse.
S. Karger Basel, New York 1962.

STEFANINI M., ADAMIS D.M., SOARDI F., MARIN H.M., MELE R.H.: Preparation of Aspergillin 0.
Lancet 2, 443, 1959.

STEICHELE D.F., HERSCHLEIN H.J.: Zur antifibrinolytischen Wirkung des Trypsin-Kallikrein-Inaktivators.
Med. Welt 42, 2170, 1961.

STEWART G.T.: Fibrinolytic therapy in meningitis and ventriculitis.
J. Clin. Path. 17, 355, 1964.

STRÄSSLE R.: Antifibrinolyse.
Schweiz. Med. Wschr. 1249, 1960.

SUNDERMANN A., VOGEL G.: Hämaturie infolge gesteigerter Urokinase-Aktivität.
Münchn. med. Wschr. 107, 2003, 1965.

SWEENEY W.S.: Aminocaproic acid an inhibitor of fibrinolysis.
Amer. J. Med. Sci. 249, 576, 1965.

TAGNON H.: zit. nach SOULIER et al. 1960.

TILLET W.S., GARNER R.L.: The fibrinolytic activity of hemolytic streptococci.
J. ep. Med. 58, 485, 1933.

TILLET W.S., JOHNSON A.J., MC CARTHY W.R.: The intravenous infusion of the streptococcal and fibrinolytic principle (streptokinase) into patients.
J. clin. Invest. 34, 169, 1955.

TODD A.S.: Some topigraphical observations on fibrinolysis. J.clin.Path. 17, 324, 1964.

TROLL W., SHERRY S., WACHMANN J.: The action of plasmin of synthetic substrates. J.biol.Chem. 231, 881, 1955.

TSAPOGAS M.J., FLUTE P.T.: Experimental thrombolysis with streptokinase and urokinase. Brit.Med.Bull. 20, 223, 1964.

UNGAR G.: Inflammation and its control. Lancet 263, 742, 1952.

VIGORITO T., CELANDER E., MILLER A., GREEN A.: In vivo distribution of radioactive anticanine urokinase. J.Amer.osteopath.Ass. 64, 955, 1965.

WARREN B.A.: Fibrinolytic properties of vascular endothelium. Brit.J.exp.Pathol. 44, 365, 1963.

WERLE E., TRAUTSCHOLD I.: Bestimmung des Kallikrein-Inaktivators "Trasylol" im Blut und in Organen und seine Verteilung nach Injektionen. Münch.Med.Wschr. 14, 773, 1961.

WILLIAMS J.R.: The fibrinolytic activity of urine. Brit.J.exp.Pathol. 32, 530, 1951.

WOROWSKI K., NIEWIAROWSKI S., PROKOPOVICZ J.: Fibrinolysis and fibrinogen downproducts (antithrombin VI) in renal venous blood (RVB) in dog. Thrombos.Diathes.Haemorrh. 12, 87, 1964.

YAMASHITA H., KOBAYASHI K., SUZUKI S., HASHIMOTO S.: Studies on the urinary fibrinolytic acceleration with small dose irradiation of ionizing radiation. Keio J.Med. 8, 331, 1959.

Mein besonderer Dank gilt
Herrn Professor Dr. R. Marx für die Überlassung des Themas, seine zahlreichen Anregungen und Ratschläge zur Förderung dieser Arbeit.

Die vorliegende Arbeit wurde abgefaßt in der Zeit von Oktober 1965 bis Mai 1966.

Die Literatur fand Berücksichtigung bis Anfang 1966.

L e b e n s l a u f

Am 26. Februar 1940 wurde ich, Ursula Händler, als Tochter des Kaufmanns Wilhelm Händler und seiner Ehefrau Anna, geb. Maas, in Münster/Westf. geboren.

Von 1946 bis 1950 besuchte ich die Volksschule und anschließend drei Jahre die Mittelschule in Nottuln/Westf. Von 1953 bis 1957 war ich Schülerin der Annette-v.-Droste-Hülshoff-Schule in Münster/Westf. Von 1957 bis 1959 besuchte ich das neusprachliche Mädchengymnasium der Ursulinen in Werl/Westf. An dieser Schule legte ich im Februar 1959 die Reifeprüfung ab.

Im Sommersemester 1959 immatrikulierte ich mich an der Westfälischen Wilhelms-Universität zu Münster. Nach dem Vorphysikum im Wintersemester 1959/60 bestand ich dort im Sommersemester 1961 die ärztliche Vorprüfung. Danach trat ich in das Kloster der Missions-Benediktinerinnen in Tutzing/Obb. ein.

Im Wintersemester 1964/65 nahm ich das Medizinstudium an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München wieder auf. Dort beendete ich die ärztliche Prüfung am 12. Februar 1968.